

**UMSETZUNGEN VON TRYPTAMIN UND
TRYPTOPHAN MIT REDUZIERENDEN
ZUCKERN ALS BEITRAG ZUR
KENNTNIS DER MAILLARD-REAKTION**

Karl - Heinz Bräutigam

1973



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548326_0026

UMSETZUNGEN VON TRYPTAMIN UND
TRYPTOPHAN MIT REDUZIERENDEN
ZUCKERN ALS BEITRAG ZUR KENNT-
NIS DER MAILLARD-REAKTION

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

der

Fakultät für Chemie und Pharmazie

der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Karl-Heinz Bräutigam

aus Koserow

München 1973



Berichterstatter: Professor Dr. Th. Severin

Mitberichterstatter: Professor Dr. F. Eiden

Tag der mündlichen Prüfung: 18.7.73

Meiner lieben Mutter und
dem Andenken meines Vaters

Die vorliegende Arbeit entstand auf Anregung und
unter Anleitung von

Herrn Professor Dr. Theodor Severin
am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie
der Ludwig-Maximilians-Universität München. Für
seine großzügige Unterstützung und stets wohlwol-
lende Hilfe möchte ich Herrn Professor Severin
meinen herzlichen Dank aussprechen.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A <u>Theoretischer Teil</u>	
1) Einleitung	1
2) Umsetzung von Tryptamin mit Xylose; Isolierung von	18
a) β -Carbolin (<u>34</u>) nach der Oxydation des Reaktionsgemisches mit Natriumperjodat	19
b) 4-Hydroxy-5-methyl-2,3-dihydro-furan-3-on (<u>35</u>)	20
c) 1-Hydroxy-6,7-dihydro-12H-indolo-[2,3-a]-chinolizin-5-ium-betain (<u>36</u>)	21
d) 1-[Furyl-(2)]- β -carbolin (<u>58</u>)	43
3) Umsetzung von Furfurol mit Ammoniak und Ammoniumsalzen; Isolierung von	35
a) Furan-2-carbonsäureamid (<u>54</u>)	35
b) N-Acetylfurfurin (<u>55</u>)	36
4) Umlagerung von <u>36</u> in 1-[Furyl-(2)]-3,4-dihydro- β -carbolin (<u>38</u>)	38
5) Umsetzung von Tryptophan mit Xylose; Isolierung von	45
a) 1-Hydroxy-6,7-dihydro-12H-indolo-[2,3-a]-chinolizin-5-ium-betain (<u>36</u>)	45
b) 1-Hydroxymethyl- β -carbolin (<u>60</u>)	47
c) β -Carbolin (<u>34</u>)	49
d) 1-[1-Hydroxybuten-3-yl]- β -carbolin (<u>62</u>)	49
e) zwei aromatischen Carbolinen	52
f) 1-[Furyl-(2)]- β -carbolin (<u>58</u>)	53

- 6) Umsetzung von Tryptamin mit Glucose; 54
Isolierung von
a) 1-Hydroxy-6,7-dihydro-12H-indolo-[2,3-a]- 54
chinolizin-5-ium-betain (36)
b) 2-Hydroxymethyl-5-[3-oxobuten-1-yl]- 57
furan (76)
c) 1-Methyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin (77a) 60
d) 1,2,3,4-Tetrahydro- β -carbolin (77b) 60
e) 1-Acetyl- β -carbolin (78) 61
- 7) Umsetzung von N-Acetyltryptamin mit Xylose und 67
Glucose und Isolierung des hypothetischen
1-Hydroxy-12H-indolo-[2,3-a]-chinolizin-5-ium-
betains (83)
- 8) Umsetzung von Glycyltryptophan mit Xylose und 68
Isolierung von 6-[β -Indolylmethyl]-2,5-diketo-
piperazin (84)
- 9) Veränderungen an Acetyltryptamin beim trockenen 69
Erhitzen; dünnschichtchromatografischer Nach-
weis von 1-Methyl-3,4-dihydro- β -carbolin (28a)
und 1-Methyl- β -carbolin (27a)
- 10) Umsetzung von Acetyltryptamin mit Benzaldehyd 71
Isolierung von 1-Phenyl- β -carbolin (85) 73
- 11) Umsetzung von N-Glycyltryptophan mit Benzalde- 75
hyd und Nachweis von 1-Phenyl- β -carbolin (85)
- 12) Umsetzung von Acetyltryptamin mit Xylose unter 75
simulierten Bratbedingungen
Isolierung von 1-Furyl- β -carbolin (58) 76
- 13) Umsetzung von N-Glycyltryptophan mit Xylose 77
und Nachweis von 1-Furyl- β -carbolin (58)

	Seite
14) Bildung von Benzaldehyd aus Phenylalanin und N-Acetylphenyläthylamin beim Erhitzen unter Einwirkung von Luft	78
15) Zusammenfassung	83
16) Literaturverzeichnis	88

B Experimenteller Teil

1) Umsetzung von Tryptaminacetat mit Xylose bei 160°; Isolierung von	96
a) 4-Hydroxy-5-methyl-2,3-dihydrofuran-3-on (<u>35</u>)	96
b) 1-Hydroxy-6,7-dihydro-12H-indolo[2,3-a]- chinolizin-5-ium-betain (<u>36</u>)	97
c) 1-[Furyl-(2)]-β-carbolin (<u>58</u>)	98
d) β-Carbolin (<u>34</u>) nach der Natriumperjodat- oxydation des Reaktionsproduktes von Tryptaminacetat mit Xylose	99
2) Synthese von <u>36</u> aus Tryptophylbromid und 2-Brom-3-hydroxypyridin	100
3) Synthese von <u>36</u> aus Furfurol und Tryptamin	101
4) Synthese von <u>36</u> aus Furfurylidentryptamin (<u>47</u>)	101
5) Synthese von <u>36</u> aus 1-[Furyl-(2)]-1,2,3,4- tetrahydro-β-carbolin (<u>48</u>)	101
6) Umlagerung von <u>36</u> in 1-[Furyl-(2)]-3,4-dihy- dro-β-carbolin (<u>38</u>)	102
7) Partielle Dehydrierung von 1-[Furyl-(2)]- 1,2,3,4-tetrahydrocarbolin (<u>48</u>)	103

	Seite
8) Katalytische Dehydrierung von 1-[Furyl-(2)]-1,2,3,4-tetrahydrocarbolin (48) und 1-[Furyl-(2)]-3,4-dihydrocarbolin (38)	103
9) Umsetzung von Furfurol mit Ammoniumchlorid und Ammoniak; Isolierung von Furan-2-carbonsäureamid (54)	104
10) Umsetzung von Furfurol mit Ammoniumacetat und Isolierung	104
a) von Acetylfurfurin (55)	104
b) einer Substanz unbekannter Struktur	105
11) Umsetzung von Tryptophan mit Xylose; Isolierung von	106
a) 1-Hydroxy-6,7-dihydro-12H-indolo[2,3-a]-chinolizin-5-ium-betain (36)	106
b) Hydroxymethyl-β-carbolin (60)	107
c) β-Carbolin (34)	107
d) 1-[1-Hydroxybuten-3-yl]-β-carbolin (62)	108
e) zwei nicht identifizierten β-Carbolinen	108
f) 1-[Furyl-(2)]-β-carbolin (58)	109
12) Acetylierung von 1-Hydroxymethyl-β-carbolin (60)	110
13) Umsetzung von Tryptaminacetat mit Glucose; Isolierung von	110
a) 1-Hydroxy-6,7-dihydro-12H-indolo-[2,3-a]-chinolizin-5-ium-betain (36)	110
b) 2-Hydroxymethyl-5-[3-oxobuten-1-yl]-furan (76)	111

	Seite
c) 1-Methyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin (<u>77a</u>)	111
d) 1,2,3,4-Tetrahydro- β -carbolin (<u>77b</u>)	112
e) 1-Acetyl- β -carbolin (<u>78</u>)	
14) Umsetzung von N-Acetyltryptamin mit Xylose und Glucose; Isolierung einer Substanz mit der hypothetischen Struktur <u>83</u>	113
15) Umsetzung von N-Glycyltryptophan mit Xylose; Isolierung von 6-[3-Indolylmethyl]-2,5-di- ketopiperazin (<u>84</u>)	114
16) Dünnschichtchromatografische Untersuchung der Reaktionsprodukte von erhitztem Acetyltrypt- amin	114
17) Umsetzung von Acetyltryptamin mit Benzaldehyd Isolierung von 1-Phenyl- β -carbolin (<u>85</u>)	115
18) Synthese von 1-Phenyl- β -carbolin (<u>85</u>)	116
19) Umsetzung von N-Glycyltryptophan mit Benz- aldehyd; Isolierung von 1-Phenyl- β -carbo- lin (<u>85</u>)	117
20) Umsetzung von Acetyltryptamin mit Xylose im wasserfreien Medium; Isolierung von 1-[Furyl- (2)]- β -carbolin (<u>58</u>)	117
21) Umsetzung von N-Glycyltryptophan mit Xylose im wasserfreien Medium; Nachweis von 1-[Furyl-(2)]- β -carbolin (<u>58</u>)	118
22) Gaschromatografische Prüfung auf 1-Methyl- 3,4-dihydroisochinolin (<u>88</u>) in erhitztem Acetylphenyläthylamin; Nachweis von Benzaldehyd	118

- 23) Quantitative gaschromatografische Bestimmung von Benzaldehyd, der beim Erhitzen von Derivaten des Phenylalanins gebildet wird.

Theoretischer Teil

Bei vielen technologischen Prozessen, die der Zubereitung und Konservierung von Lebensmitteln dienen, treten Bräunungsreaktionen auf. Als Beispiele lassen sich das Braten von Fleisch, das Brotbacken, das Rösten von Kaffee und Erdnüssen oder das Malzdarren anführen. Einzelne Bestandteile dieser Nahrungsmittel bräunen, wenn sie hoch erhitzt werden. Die Caramellisierung der Kohlenhydrate beginnt oberhalb 200°. Aminosäuren werden bei dieser Temperatur lediglich decarboxyliert. Dagegen führt die von L.C.Maillard ¹⁾ im Jahre 1912 erstmalig beschriebene Reaktion von Zuckern mit Aminosäuren bereits bei 50° bis 70° relativ rasch zu braunen Produkten unbekannter Struktur, den sogenannten Melanoidinen.

Abweichend vom klassischen Modell der Maillard-Reaktion wurde später festgestellt ²⁾, daß Zucker auch in Abwesenheit von Aminosäuren unter dem katalytischen Einfluß von Säuren und Basen braune Pigmente bilden können. C.Enders ³⁾ weitete die Melanoidinreaktion auf Verbindungen mit freier Carbonylgruppe und solche mit Aminogruppen aus, so daß sich der Oberbegriff der "nichtenzymatischen Bräunung" einbürgerte. Im Unterschied dazu ist die beim Zerkleinern von Früchten und Kartoffeln beobachtete Braunfärbung auf die enzymatische Oxydation von Phenolen und Polyphenolen zurückzuführen.

Nach bisherigen Untersuchungen sind die Aminogruppen der Aminosäuren, nicht aber deren Carboxylgruppen an

Bräunungsreaktionen beteiligt. Im Proteinverband kommt daher den basischen Aminosäuren besondere Bedeutung zu. Da die meisten Lebensmittel reduzierende Zucker, freie Aminosäuren und Proteine enthalten, ist die Maillard-Reaktion die häufigste Ursache für eine Bräunung, was sich am Beispiel des Brotbackens verdeutlichen läßt. Durch das Aufbringen einer Zuckerlösung auf die Oberfläche des noch ungebackenen Brotes kann man eine dunkle, aromatische Kruste erzeugen ⁴⁾. Brotsorten wie Pumpernickel, die bei vergleichsweise niederen Temperaturen gebacken werden, weisen infolge der lang anhaltenden Aktivität der stärkeabbauenden Enzyme einen hohen Zuckergehalt auf. Daher findet während des Backvorganges auch im Inneren des Brotes intensive Bräunung statt.

Die Melanoidinbildung - bei der nichtenzymatischen Bräunung das auffälligste Merkmal der Reaktion - verläuft parallel zur Entstehung flüchtiger Produkte, die dem gebräunten Lebensmittel typisches Aroma verleihen. Demzufolge befaßt sich ein Forschungszweig mit der Aufklärung der gebildeten Aroma- und Geschmacks-komponenten, während ein anderer versucht, die vielschichtigen chemischen Reaktionsabläufe durchschaubar zu machen. Die Ergebnisse dieser Bemühungen sind in den Veröffentlichungen von G.P.Ellis ⁵⁾ und T.M.Reynolds ⁶⁾ zusammengefaßt.

Beispielsweise wurde der Einfluß von p_H -Wert, Temperatur und Wassergehalt auf das Ausmaß der Bräunung

untersucht. Verschiedene Autoren ⁷⁾ stellten dabei fest, daß mit steigender Temperatur die Bildung brauner Produkte zunimmt, diese jedoch unterschiedliche Eigenschaften besitzen. Untersuchungen, die man an der Reaktion von Glucose mit Leucin bei 25° vornahm, zeigten eine Zunahme der Reaktionsgeschwindigkeit mit steigendem p_H -Wert ^{7b)}. Nach den Versuchen von M.L.Wolfrom und C.S.Roney ⁸⁾ liegt der für optimale Bräunung günstigste Wert für den Wassergehalt bei 30%. Bei niederen Temperaturen wurde bei einem Wassergehalt von mehr als 90% sowie im wasserfreien Medium keine Bräunung festgestellt.

Hinsichtlich ihrer Reaktivität führte man bei verschiedenen Zuckern und Aminosäuren zahlreiche Vergleiche durch. Etliche Autoren ^{1) 9)} begründen die Reaktivität der Zucker mit der freien Verfügbarkeit ihrer Carbonylgruppe, woraus sich die Reaktionsträgheit der Disaccharide folgern läßt. Bei den Aminosäuren wurde die Basenstärke mit erhöhter Reaktionsbereitschaft in Zusammenhang gebracht ¹⁰⁾, so daß Lysin und Ornithin als besonders reaktionsfähig angesehen werden ^{11) 12)}. Andere Autoren ¹³⁾ messen den aromatischen Aminosäuren Histidin und Tryptophan große Bedeutung bei.

Um die Aufklärung der Strukturen der Melanoidine bemühten sich etliche Arbeitskreise. Einige Autoren ^{5) 6)} gaben von abgetrennten, einheitlichen braunen Pigmenten Summenformeln an, andere führten Messungen

der UV-¹⁴⁾ und IR-^{6a)} Spektren durch. H.D.Cremer und E.Menden¹⁵⁾ stellen sich die braunen Körper aufgrund von Viskositätsmessungen als langgestreckte Fadenmoleküle vor. Erfolgversprechender erscheinen die Versuche von K.Heyns und C.Hauber¹⁶⁾, die durch Pyrolysegaschromatografie eines ¹⁴C-markierten Sorbosebräunungspolymerisats unter anderem 2-Hydroxyacetylfuran fanden. Daraus schlossen sie, daß das Makromolekül durch Polykondensation dieser Verbindung entstanden sei. In neuester Zeit wird versucht¹⁷⁾, die polymeren Melanoidinkörper durch geeignete chemische Reagenzien, z.B. Oxydationsmittel, in niedermolekulare Bruchstücke zu zerlegen, um so Aufschlüsse über die Zusammensetzung zu erhalten. Bisher ist man jedoch von einer Strukturaufklärung weit entfernt.

Bei den Bräunungsreaktionen werden zunächst die Kohlenhydrate verändert. Die ersten Reaktionsfolgen sind schon gut bekannt. Darin sind die klassische Maillard-Reaktion, die Caramellisierung und die Bräunung von Zuckern unter Säure- und Basenkatalyse mechanistisch sehr ähnlich. Bei Erhitzungsprozessen laufen in Lebensmitteln diese drei Reaktionstypen oft nebeneinander ab. Man fand nämlich in Röstprodukten seltene Anhydrozucker. Diese werden beim trockenen Erhitzen von Kohlenhydraten gebildet. Unter den Bedingungen der Maillard-Reaktion sind sie jedoch nicht nachweisbar. Nach H.Streuli¹⁸⁾ unterscheiden sich die Bräunungs-

vorgänge beim Rösten nicht von denen, die sich in wäßriger Lösung abspielen. Daher wird man stets mit Caramellisierungsreaktionen rechnen müssen.

Als erster Schritt der Maillard-Reaktion wurde der Angriff der Zuckercarbonylgruppe von Aldosen und Ketosen auf die Aminogruppe der Aminosäuren oder Amine erkannt. Die daraus resultierenden Kondensationsprodukte, nämlich Aldosylamine und Ketosylamine, konnten in vielen Fällen in Substanz isoliert werden.

Aldosylamine, die aus primären Aminen entstanden sind, können unter geeigneten Reaktionsbedingungen mit einem weiteren Mol Zucker zu Dialdosylaminen reagieren ¹⁹⁾.

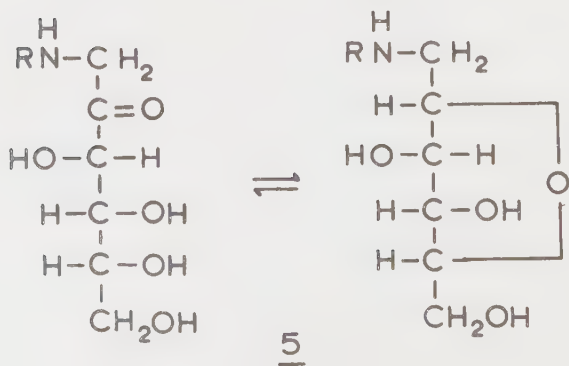
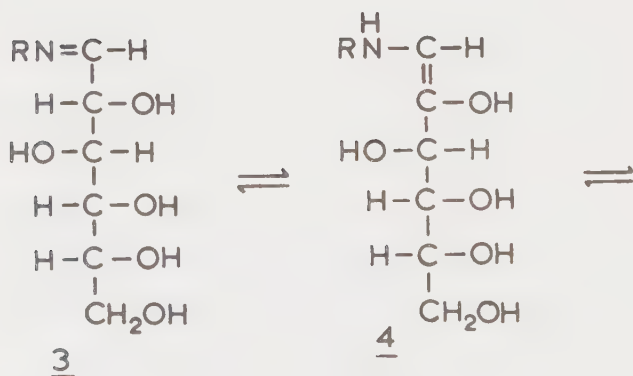
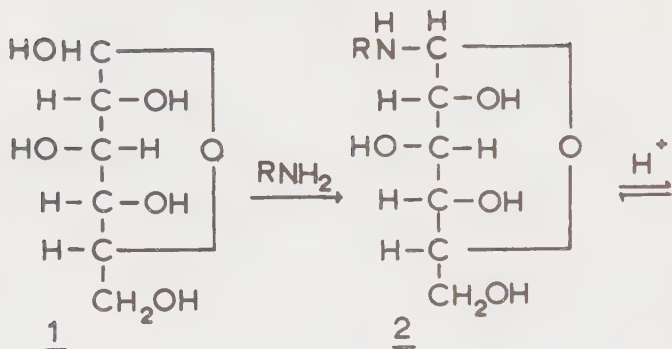
Unter dem katalytischen Einfluß von Säure vollzieht sich bei Aldosylaminen die Amadori-Umlagerung, die zu den entsprechenden 1-Desoxy-1-aminoketosen führt.

Eine Vielzahl von Autoren ⁶⁾ hat dafür Reaktionsmechanismen formuliert. Stellvertretend für die unterschiedlichen Auffassungen soll nur der Reaktionsablauf nach R.Kuhn und F.Weygand ²⁰⁾ skizziert werden.

Die wesentlichen Schritte sind im Schema 1 festgelegt. Aus Glucose(1) und dem Amin bildet sich unter Wasseraustritt das entsprechende Glucosylamin 2.

Die Protonierung des Ringsauerstoffs bewirkt Ringöffnung, wobei die Schiffsche Base 3 entsteht. Anschließende Tautomerisierung führt über das Aminoenol 4 zur 1-Desoxy-1-aminofructose (5).

SCHEMA 1



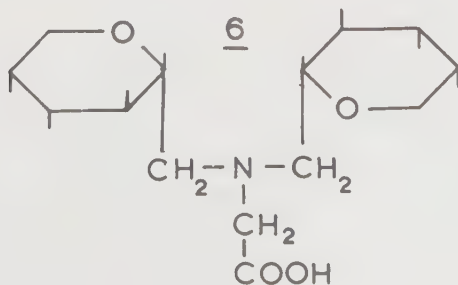
Ketosen verhalten sich entsprechend; sie bilden über Ketosylamine durch Heyns-Carson Umlagerung ²¹⁾

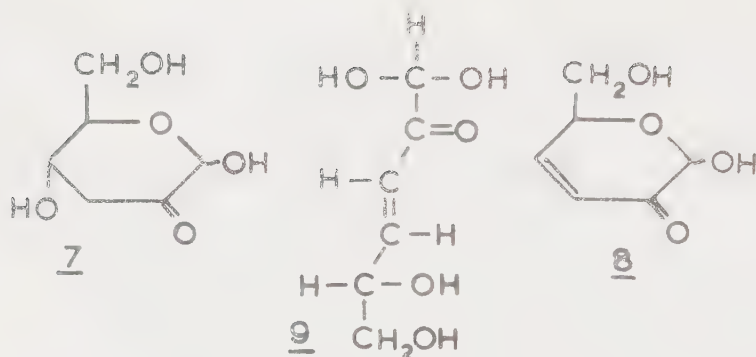
2-Desoxy-2-aminoaldosen.

Über die Weiterreaktion der 1-Desoxy-1-aminoketosen zu braunen Produkten ist wenig Konkretes bekannt.

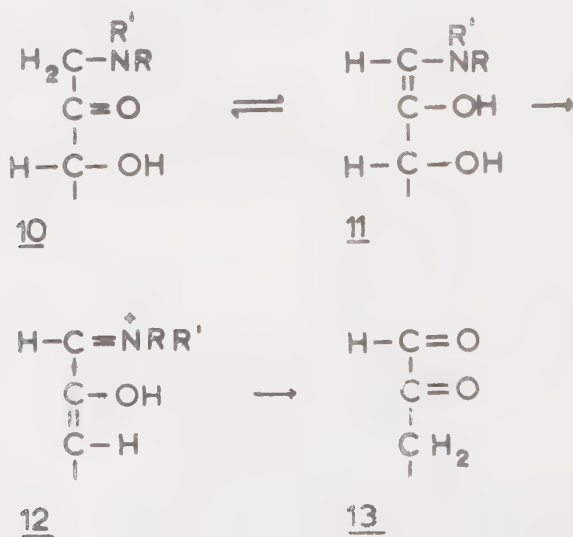
Zunächst können aus ihnen durch Verschiebungen der Doppelbindung bzw. Keto-Enol-Umlagerungen, Wasserabspaltungen und Fragmentierungen, d.h. Retroaldoladditionen, sowie intramolekulare Dismutationen Zuckerumwandlungsprodukte gebildet werden, die ihrerseits wieder in die Bräunungsreaktion eingreifen können.

Dabei fungieren die Aminosäuren als Säure- und Basenkatalysatoren ²²⁾. Als Zwischenprodukte entstehen dabei u.a. Dicarbonylverbindungen. Anet ²³⁾ fand, daß beim Erhitzen von Glucose mit Glycin Difructosylglycin (6) entsteht. In wäßriger Lösung zersetzt sich 6 in Fructosylglycin und eine Anzahl neutraler Carbonylverbindungen. Es gelang, daraus das gesättigte 3-Desoxyglucoson (7), sowie zwei ungesättigte Osone 8 und 9, nämlich 3,4-Didesoxy-1,2-glucoson-3-en in cis- und trans-Form zu erhalten.



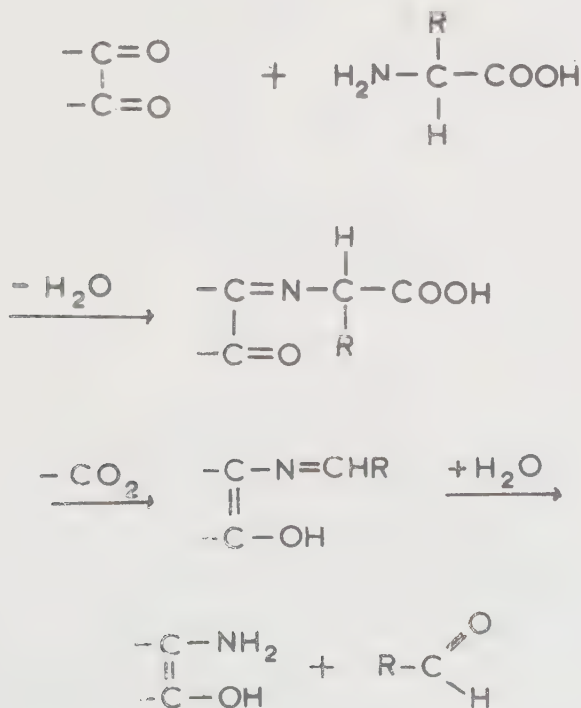


Für die Reaktion der 1-Desoxy-1-aminoketosen (5) zu Osonen schlagen Isbell und Frush ²⁴⁾ folgenden Mechanismus vor: Das Enol 11 des Amadori-Produktes 10 kann als Enamin am C 3-Atom leicht eine Hydroxylgruppe abspalten, wobei das Enol 12 entsteht. Durch Umlagerung in die Ketoverbindung und hydrolytische Aminabspaltung bildet sich das entsprechende 3-Desoxyoson 13.

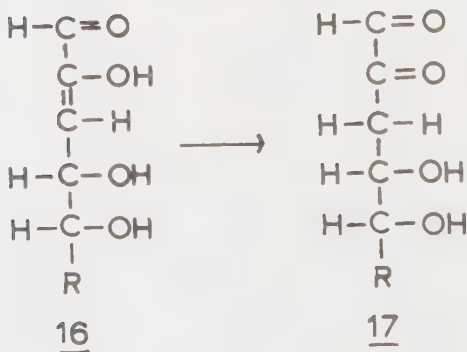
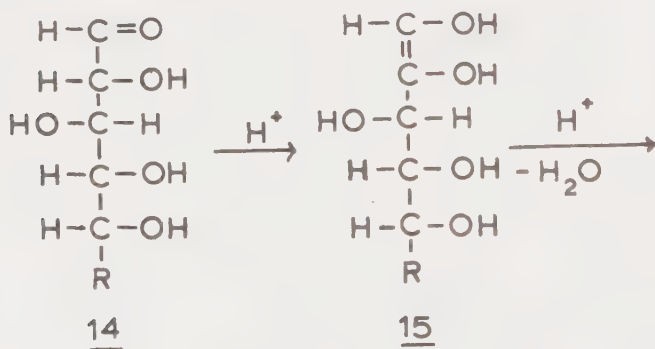


Die Osonbildung aus Zuckern kann auch unter Säure- und Basenkatalyse erreicht werden. Bereits J.U.Nef ²⁵⁾ vermutete, daß bei der Bildung von Metasaccharinsäure aus Glucose durch Alkalieinwirkung das 3-Desoxyglucozon als Zwischenprodukt auftritt. Später wurde diese Auffassung von G.Machell und G.N.Richards ²⁶⁾ bestätigt.

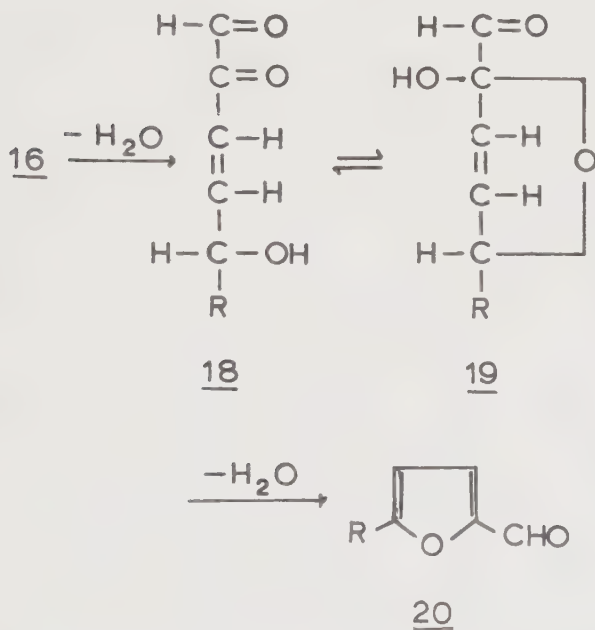
Osone können im Rahmen der Maillard-Reaktion den nach Strecker benannten Abbau der Aminosäuren zu einem um ein C-Atom ärmeren Aldehyden bewirken ²⁷⁾. Der Abbau erfolgt nach folgendem Schema:



Die im sauren Milieu aus Hexosen und Pentosen entstehenden Ozone reagieren rasch zu Furan-2-aldehyden weiter. Diese bekannte Reaktion, die großtechnisch zur Furfurolgewinnung genutzt wird, ist von einer Reihe von Autoren ^{28) 29)} beschrieben. Nach H.S. Isbell ³⁰⁾ lagert sich die Aldose (14) unter Protoneneinfluß in das Endiol (15) um, aus dem nach Protonierung der Hydroxylgruppe an C 3 Wasser eliminiert wird. Dadurch entsteht das Enol des 3-Desoxyosons (16), das sich zum 3-Desoxyoson (17) tautomerisieren kann.



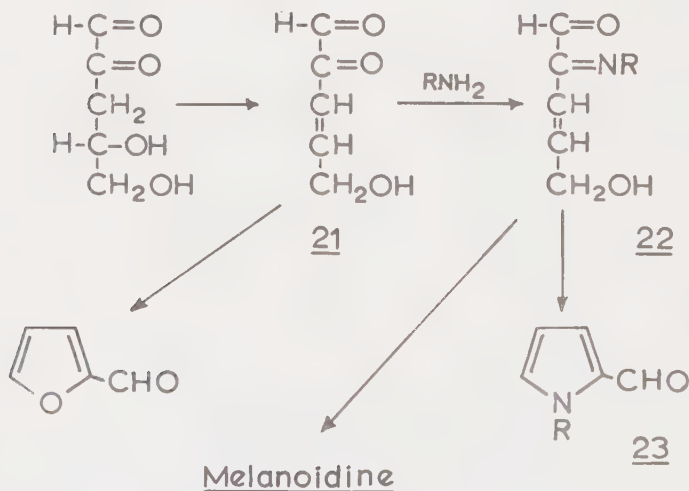
Protonierung der Hydroxylgruppe an C 4 ermöglicht nochmalige Wasserabspaltung, was die Bildung des ungesättigten Osons 18 zur Folge hat. Aus dessen Halbacetalform 19 führt der Austritt eines weiteren Mols Wasser zum Furan-2-aldehyd (20).



Die Furanaldehyde Furfurol und Hydroxymethylfurfurol werden auch bei der Maillard-Reaktion gebildet, wobei die intermediär auftretenden 3-Desoxyosone unter Aminkatalyse entstehen. Die angeführten Zwischenstufen und Reaktionsabläufe werden später bei speziellen Problemen erwähnt und sind daher an dieser Stelle beschrieben.

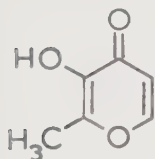
Die Osone sind als α -Dicarbonylverbindungen wesentlich

reaktiver als die Zucker und stellen Zwischenstufen für die Bildung niedermolekularer Produkte einerseits und höhermolekularer brauner Pigmente andererseits dar. Bei der Weiterreaktion der Osone zu niedermolekularen Substanzen kann das Amin als Katalysator fungieren oder aber in das Endprodukt eingebaut werden. Ein Beispiel für diese beiden Möglichkeiten findet sich in der Veröffentlichung von H.Kato und M.Fujimaki ³¹⁾. Die Autoren konnten zeigen, daß bei Umsetzungen von Pentosen mit Aminosäuren oder primären aliphatischen Aminen N-substituierte 2-Formylpyrrolé (23) und Furfurol gebildet werden.

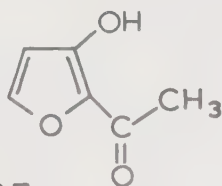


Beide Verbindungen besitzen im 3,4-Didesoxy-1,2-pentosen-3-en (21) eine gemeinsame Zwischenstufe. Im einen Fall reagiert 21 mit einem Mol Amin zur Schiffschen Base 22, aus der das Formylpyrrol 23 durch Ringschluß über den Stickstoff hervorgeht.

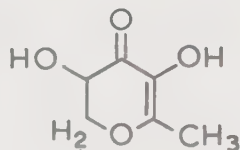
Beim aminkatalysierten Zuckerabbau entstehen stickstoff-freie, z.T. flüchtige Stoffe. Neben den erwähn-ten Furanaldehyden lassen sich beispielsweise das von J.Brand ³²⁾ im Malz entdeckte Maltol (24), sowie das Isomaltol (25) anführen, dessen Struktur von B.E. Fisher und J.E.Hodge ³³⁾ aufgeklärt wurde. Das von Th.Severin und W.Seilmeier ³⁴⁾ isolierte 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-pyran-4-on (26) entsteht beim aminkatalysierten Abbau von Glucose.



24



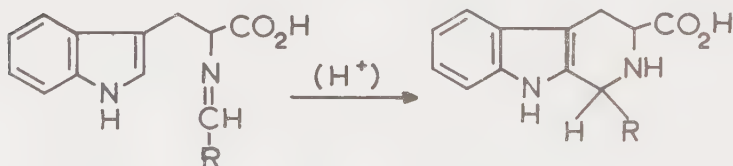
25



26

Bei den bisher beschriebenen Umsetzungen reagierte die Aminkomponente unspezifisch. Eine Reihe von Aminosäuren und Aminen besitzt Seitenketten und Substituenten, einige auch aromatische Reste mit hoher Reaktivität. Als Beispiele sind Tyrosin, Tryptophan, Histidin, Cystein, Serin und Threonin sowie deren Decarboxylierungsprodukte zu nennen. Es ist zu erwarten, daß diese Verbindungen auch unter Beteiligung ihrer Seitenketten mit Zuckern reagieren. Mit den aromatischen Aminosäuren Histidin und Tryptophan befaßten sich K.Heyns und H.Noack ³⁵⁾. Bei Umsetzungen mit Glucose und Fructose in Dimethylsulfoxyd oder Methanol erhielten sie die entsprechenden Amadori-Umlagerungsprodukte. Eine

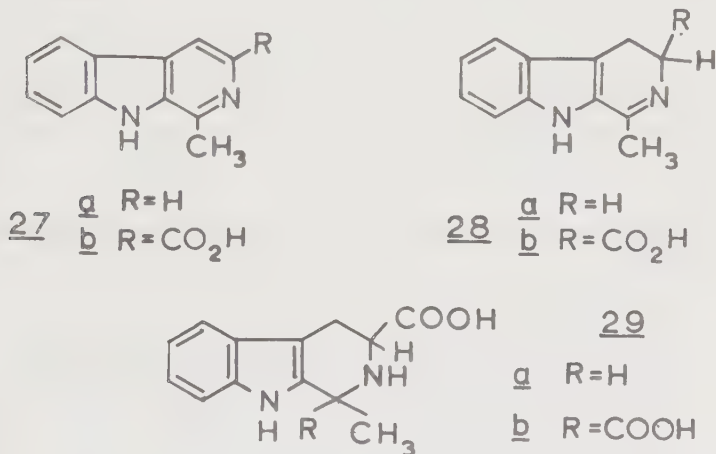
Reaktion des Indol- oder Imidazolringes konnten sie nicht feststellen. Dies ist bemerkenswert, da gerade der Indolring des Tryptophans in seiner α - und β -Stellung von Elektrophilen leicht angreifbar ist. Es ist somit nicht ausgeschlossen, daß die aus Tryptophan und Zuckern primär entstehenden Azomethine sich nicht umlagern, sondern mit dem Indolring in Reaktion treten. Unter dem katalytischen Einfluß von Säure wäre dann eine Sechsringbildung zum tricyclischen 1,2,3,4-Tetrahydro- β -carbolinsystem begünstigt.



Dieser Spezialfall der Pictet-Spengler-Reaktion ³⁶⁾, die ursprünglich zur Synthese von Tetrahydroisochinolinen diente, wird in der Alkaloidchemie zur Darstellung von Carbolinen häufig angewandt ³⁷⁾ ³⁸⁾. K. Heyns und H. Noack führten die Umsetzungen in Abwesenheit von Säure durch. Das mag erklären, warum vorzugweise Amadori-Umlagerung und nicht Cyclisierung stattgefunden hat.

In diesem Zusammenhang sind die Befunde von R. Tschesche und Mitarbeitern ³⁹⁾ interessant. Sie konnten in einem durch Säurehydrolyse von Casein gewonnenen Aminosäuregemisch folgende Carboline nachweisen: 1-Methyl- β -carboline (27a), 1-Methyl- β -carbolinecarbonsäure-(3) (27b), 1-Methyl-3,4-dihydro- β -carboline (28a),

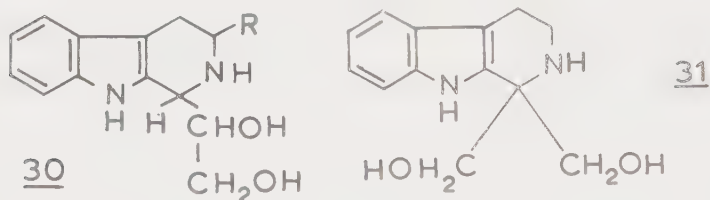
1-Methyl-3,4-dihydro-β-carbolincarbonsäure-(3) (28b)
und 1-Methyl-1,2,3,4-tetrahydro-β-carbolincarbonsäure-
(3) (29a).



Als Carbonylkomponente fungierte dabei Brenztraubensäure, die bei der sauren Hydrolyse von Serin gebildet wird. Die Entstehung dieser Carboline wurde als Pictet-Spengler-Ringschluß zur 1-Methyl-1,2,3,4-tetrahydrocarbolindicarbonsäure-(1,3) (29b) gedeutet, welche unter Dehydrierung und Decarboxylierung in die anderen Carboline übergehen kann.

Th. Severin und B. Heidenhain ⁴⁰⁾ konnten nachweisen, daß beim Erhitzen von Tryptophan bzw. Tryptamin mit den Zuckermodellsubstanzen Glycerinaldehyd und Dihydroxyaceton in wäßriger saurer Lösung nicht die Amadori-Umlagerungsprodukte, sondern die entsprechenden Tetrahydrocarboline 30 und 31 entstehen. Es wurde weiterhin experimentell festgestellt, daß Tryptophan und Tryptamin analog reagieren. Wenn die Carboxylgruppe des Trypto-

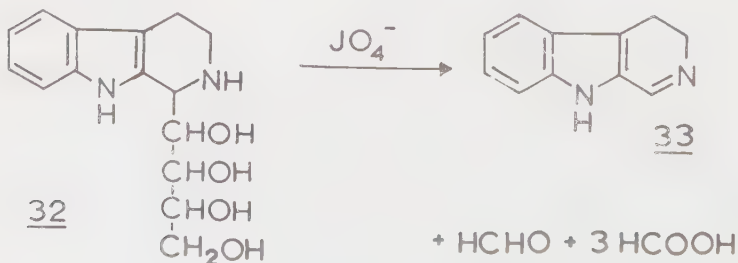
phans die Acidität des Milieus nicht beeinflußt, wird auch die Reaktivität der Aminogruppe und des Indolkerns nicht wesentlich beeinträchtigt.



a R = H

b R = COOH

Der Nachweis und die Isolierung der analogen Carboline aus Tryptophan bzw. Tryptamin und Zuckern sind nicht ganz einfach, da das erwartete stark hydrophile Endprodukt 32 mit organischen Lösungsmitteln nicht extrahierbar ist. B.Heidenhain ⁴¹⁾ versuchte daher, bei dem hypothetischen Cyclisierungsprodukt 32 aus Tryptamin und Arabinose die störende Polyhydroxyalkanseitenkette durch Perjodatoxydation nach Malaprade abzutrennen, um so zu dem leichter isolierbaren 3,4-Dihydro-β-carbolin (33) zu gelangen.



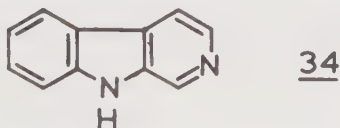
Der Nachweis des Dihydrocarbolins ist ein indirekter Beweis für das Vorliegen von 32 oder ähnlicher Verbindungen im Reaktionsgemisch. Dazu wurden Arabinose und Tryptaminacetat mit Wasser zwei Stunden auf 160° erhitzt und die wäßrige Lösung durch Extraktion mit Methylenchlorid von niedermolekularen lipophilen Produkten befreit. Anschließend wurde die wäßrige Phase, die das Tryptamin-Arabinose-Kondensationsprodukt enthalten müßte, mit Perjodat oxydiert und erneut mit Methylenchlorid extrahiert. Dieser Auszug lieferte auf Dünnschichtchromatogrammen bei verschiedenen Fließmitteln Flecken mit Rf-Werten, die mit denen des authentischen Dihydrocarbolins (33) übereinstimmten. Da aber 33 nicht in Substanz isoliert wurde, ist der Nachweis nicht ganz gesichert. Den vor der Perjodatoxydation hergestellten Methylenchloridextrakt untersuchte B.Heidenhain nicht weiter. Gerade in diesem Auszug sind interessante Substanzen zu erwarten, die aus Tryptamin und Zuckerbruchstücken entstanden sein könnten.

Daher habe ich die Reaktion wieder aufgegriffen, um das Dihydrocarbolin (33) und evtl. weitere Reaktionsprodukte zu isolieren. Da die Dünnschichtchromatogramme der Methylenchloridextrakte auf sehr komplex zusammengesetzte Gemische hindeuten, bot sich zur Abtrennung definierter Produkte die präparative Schichtchromatografie (PSC) auf Kieselgel an. Bei erträglicher Belastbarkeit der Chromatografieplatten

wird hier eine hervorragende Trennschärfe erreicht.

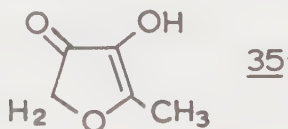
Die Versuchsbedingungen wählte ich wie bei B.Heidenhain angegeben, nur setzte ich statt Arabinose Xylose als Zuckerkomponente ein. Tryptamin und Xylose wurden im Molverhältnis 1:2 mit 1 Mol Essigsäure in etwa neutraler wäßriger Lösung im Bombenrohr drei Stunden auf 160° erhitzt. Die tiefgebräunte Lösung reagierte schwach sauer. Offenbar beruht die Zunahme der Acidität auf Umsetzungen, wie sie auch bei der Bildung von Saccharinsäuren im Alkalischen stark in den Vordergrund treten. Demnach finden Disproportionierungen, vielleicht auch Luftoxydationen statt. Die wäßrige Lösung wurde im vorliegenden sauren Milieu mit Methylenchlorid extrahiert, anschließend alkalisiert und erneut mit Methylenchlorid ausgeschüttelt. Auf diese Weise ist eine Vortrennung in neutrale und saure Komponenten einerseits und basische Verbindungen andererseits möglich. Die Auszüge der sauer und alkalisch extrahierten Lösung ergaben nach dem Einengen im Vakuum zähflüssige braune Öle, deren Untersuchung später beschrieben wird. Die extrahierte wäßrige Lösung neutralisierte ich nun mit Salzsäure und ließ sie unter Zusatz von 4 Mol Natriumperjodat pro Mol Xylose 20 Stunden bei Raumtemperatur stehen. An den Oxydationsvorgang schloß sich wieder ein Extraktionsschritt der zunächst sauren, dann alkalisierten Lösung an. Der letztere, von Methylenchlorid im Vakuum befreite Auszug, in dem nach den Versuchsbeschreibungen von B.Hei-

denhain das gesuchte Dihydrocarbolin (33) enthalten sein müßte, wurde auf eine PSC-Kieselgelplatte aufgetragen und im Fließmittelgemisch Essigester-Methanol (4:1) entwickelt. Im oberen Drittel der Platte zeigte sich im Licht der Wellenlänge $350\text{m}\mu$ eine breite blau fluoreszierende Zone, die mechanisch abgetrennt und mit Methylenchlorid vom Kieselgel eluiert wurde. Das Eluat lieferte farblose Kristalle, die durch Hochvakuumsublimation gereinigt werden konnten. Das IR-Spektrum zeigte jedoch keine Identität mit dem eines Dihydrocarbolins, das nach den Angaben der Literatur ⁴²⁾ aus Formyltryptamin durch Cyclisierung erhalten wurde. Elementaranalyse und Massenspektrum der isolierten Kristalle wiesen auf die Struktur des aromatischen β -Carbolins (34) hin. Die Identifizierung erfolgte durch Vergleich mit der nach E.Späth und E.Lederer ⁴³⁾ hergestellten authentischen Substanz.



Dieser Befund widerspricht nicht der oben angeführten Theorie zur Bildung des 3,4-Dihydrocarbolins (33), denn Carboline in der 3,4-Dihydropstufe können leicht disproportionieren oder dehydriert werden ^{39) 44)}. Daher ist die bei B.Heidenhain angeführte Argumentation, daß Tryptamin mit Zuckern bei hoher Temperatur zu Tetrahydro- β -carbolinderivaten reagiert, gerechtfertigt.

Der bei der oben beschriebenen Umsetzung gewonnene Methylenchloridextrakt der sauren Reaktionslösung wurde dünnschichtchromatografisch untersucht. Auf mit Essigester entwickelten Kieselgelplatten war im Licht der Wellenlänge $254\text{m}\mu$ ein Fleck mit R_f 0,7 durch Fluoreszenzlöschung sichtbar. Die ihm zugeordnete Substanz konnte ich durch präparative Schichtchromatografie abtrennen und durch Sublimation bei 0,1 Torr reinigen, wobei farblose Kristalle erhalten wurden. Durch Vergleich von IR-Spektren ließ sich die Struktur als 4-Hydroxy-5-methyl-2,3-dihydro-furan-3-on (35) festlegen.



Th. Severin und W. Seilmeier ⁴⁵⁾ haben die Substanz aus Pentosen und Alkylammoniumacetat erstmalig dargestellt und beschrieben.

In polarereren Fließmitteln tritt ein gelber Fleck auf, der bei Bestrahlen mit Licht der Wellenlänge $350\text{m}\mu$ intensiv gelb fluoresziert. Nachfolgend sind die in verschiedenen Lösungsmitteln erhaltenen R_f -Werte und die dazugehörigen Fließmittel zusammengestellt:

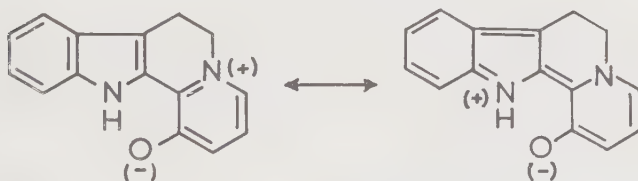
R_f 0,6 in Aceton/Chloroform/Ammoniak (60/20/10)

R_f 0,3 in Tetrahydrofuran/Chloroform/Ammoniak (70/20/10)

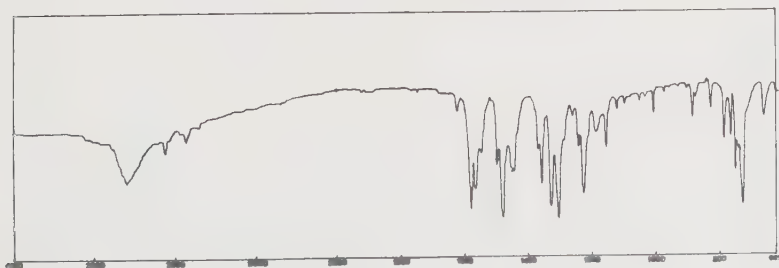
R_f 0,2 in Benzol/Aceton/Ammoniak (45/45/10)

Die Abtrennung der Substanz aus dem braunen, komplex

zusammengesetzten Extrakt gelingt mit dem ersten Fließmittelsystem am besten. Nach zweimaliger Durchführung dieser Trennoperation hinterbleibt nach vollständiger Entfernung aller Lösungsmittel ein tiefgelber fester Schaum, der keine Neigung zur Kristallisation besitzt. Bei der Sublimation im Hochvakuum schlägt sich am Kühlrohr eine gelbe amorphe Masse nieder. Lediglich am Kühlrohranfang bilden sich winzige gelbe Kristallnadeln aus. Das analysenreine Sublimat besitzt laut Elementaranalyse die Bruttoformel $C_{15}H_{12}N_2O$. Elementaranalyse und verschiedene Spektren deuten auf die Struktur des 1-Hydroxy-6,7-dihydro-12H-indolo[2,3-a]-chinolizin-5-ium-betains ⁴⁶⁾ (36) hin.



36

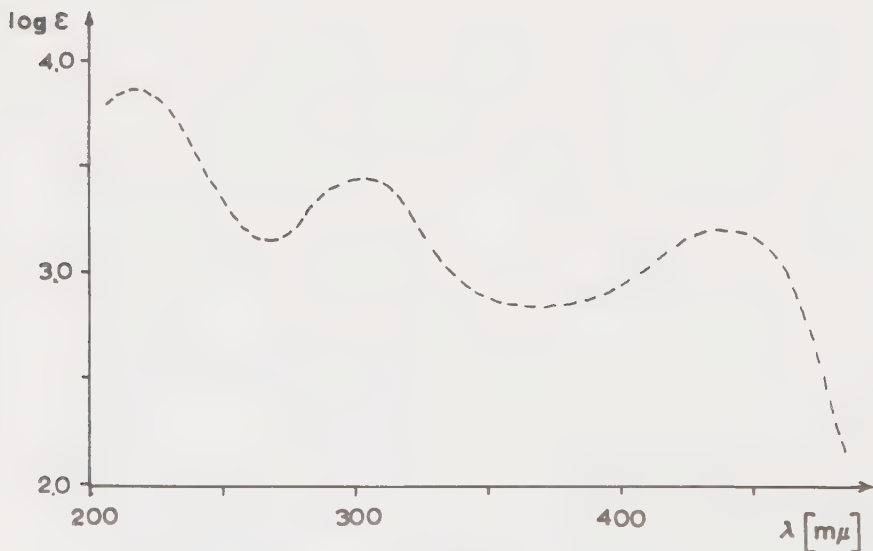


IR-Spektrum von 36 in KBr

Das IR-Spektrum enthält keine leicht zu interpretierenden Valenzschwingungsbanden. Jedenfalls kann ausgeschlossen werden, daß der Sauerstoff als Carbonylfunktion vorliegt. Bei 3300 cm^{-1} findet man eine breite

Bande, die einer Wasserstoffbrückenbindung zuzuordnen ist.

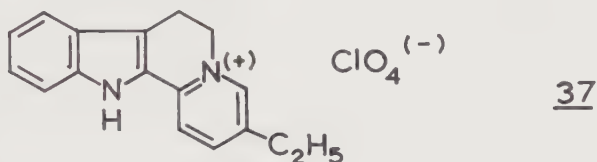
Dihydrocarboline mit Alkylsubstituenten in 1-Stellung sind farblose Substanzen. Das langwellige Absorptionsmaximum des 1-Methyl-3,4-dihydro- β -carbolins liegt bei 345 m μ (in Äthanol). Die Methylierung des Pyridinstickstoffs bewirkt eine bathochrome Verschiebung dieses Absorptionsmaximums um 10 m μ . Daher ist 1,2-Dimethyl-3,4-dihydro- β -carbolin bereits schwach gelb ⁴⁷⁾. Demgegenüber absorbiert das Benzocarbolin 36 bei 435 m μ (in Äthanol). Das ist verständlich, da das konjugierte System im Vergleich zu den genannten Dihydrocarbolinen stark ausgeweitet ist.



UV-Spektrum von 36 in Äthanol

Die Absorptionsmaxima-Werte von 36 gleichen denen, die E.Wenkert und Mitarbeiter ⁴⁸⁾ für 3-Äthyl-6,7-dihydro-

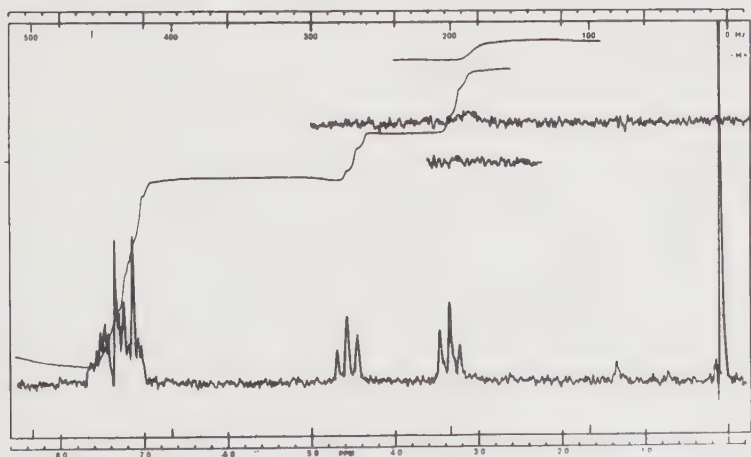
-12H-indolo[2,3-a]-chinolizin-5-ium-perchlorat (37) erhalten haben. Die Verbindung stellt die Dihydroform des Alkaloids Flavopereirin dar, das in Geissospermum laeve und vellosii natürlich vorkommt.



Die Lichtabsorptionswerte werden von E.Wenkert wie folgt angegeben:

$\lambda_{\max}$ (log ϵ) 222 m μ (4,43); 252 m μ (3,99); 316 m μ (4,13)
392 m μ (4,11); in 95% Äthanol

Offenbar wirkt sich der Betainsauerstoff von 36 in einer Rotverschiebung der Lichtabsorption aus.



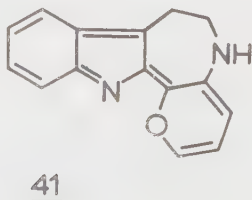
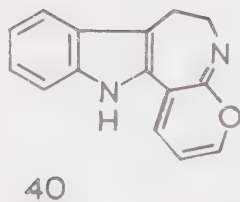
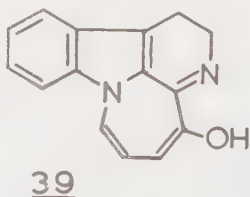
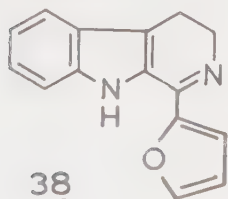
NMR-Spektrum von 36 in Deuterochloroform (TMS als innerer Standard)

Durch das NMR-Spektrum lassen sich die beiden benachbarten Methylengruppen identifizieren, die als zwei

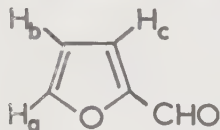
Tripletts bei $6,73\tau$ und $5,53\tau$ mit $J=7\text{Hz}$ erscheinen. Das Proton am Pyrrolstickstoff liefert ein schwaches Signal bei $-1,2\tau$. Das Multiplett bei $2,73\tau$ ist nur schwer aufzuschlüsseln. Die Flächenintegration deutet auf sieben aromatisch gebundene Protonen hin.

Das Massenspektrum von 36 (s. exp. Teil) ist reich an Peaks und nur schwierig zu interpretieren. Die Aufstellung von Zerfallsreihen ist vorläufig noch nicht möglich. Es liefert jedoch einen eindeutigen Molekülpeak bei m/e 236 und steht in Übereinstimmung mit der Elementaranalyse.

Diese Daten reichen zu einem Strukturbeweis noch nicht aus. Unter Berücksichtigung der Ausgangsverbindungen könnte man als Grundgerüst ein Dihydrocarbolin oder einen carbolinähnlichen Körper formulieren. Die Bruttozusammensetzung $C_{15}H_{12}N_2O$ läßt weitere Formelvorschläge zu:



Das NMR-Spektrum von 38 läßt ein charakteristisches Signal für das mittlere der drei Furanprotonen erwarten. Das sei am Beispiel des Furfurols erläutert ⁴⁹⁾.

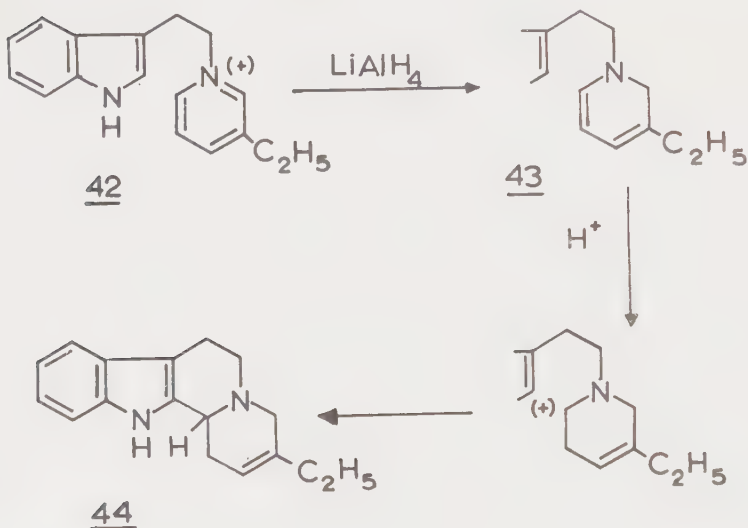


Die Protonen H_a und H_b liefern bei 2,3 τ bzw. 3,4 τ Signale. Das Signal von H_b wird durch die benachbarten Protonen aufgespalten, woraus ein doppeltes Dublett mit den Kopplungskonstanten J_{ab} 1,6Hz und J_{bc} 3,3Hz resultiert. Durch das Fehlen jeglicher Signale im Bereich von 3,0 τ bis 5,2 τ im NMR-Spektrum kann die Struktur 38 ausgeschlossen werden. Strukturvorschlag 39 scheidet aus, da sich die Verbindung unter Schotten-Baumann-Bedingungen nicht acetylieren ließ. In der Struktur 41 liegt ein langkonjugiertes o-chinoides System vor. Die Lichtabsorption dieses Chromophors dürfte gegenüber dem der Verbindung 36 bei größeren Wellenlängen liegen. 40 und 41 sollten im IR-Spektrum scharfe NH-Banden zeigen. Beide Strukturen 40 und 41 können durch die bisherigen Ergebnisse jedoch nicht eindeutig ausgeschlossen werden.

Um die Struktur endgültig festlegen zu können, versuchte ich, die Substanz auf einem unabhängigen Syntheseweg darzustellen. Der Grundkörper ist Bestandteil einer Vielzahl von Indolalkaloiden, so z.B. der Strychnin- und Yohimbinreihe.

Das Grundgerüst von 36 ist in dem bereits erwähnten

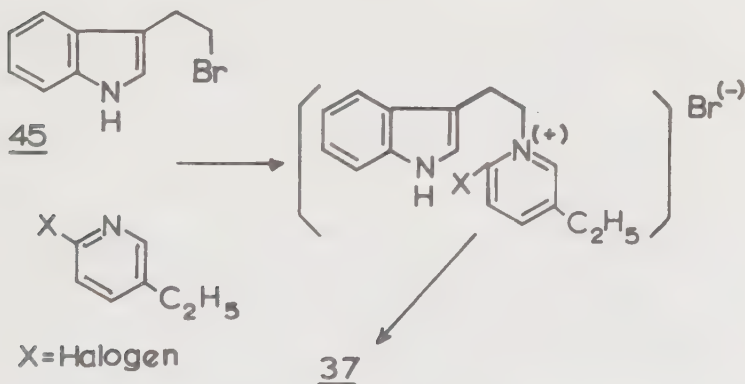
Dihydro-Flavopereirin (37) enthalten. E.Wenkert et al.⁴⁸⁾ synthetisierten 37 durch reduktive Cyclisierung von 3-Äthyl-1-[2-(3-indolyl)-äthyl]pyridiniumbromid (42) und anschließende Dehydrierung.



Unter der Einwirkung von Lithiumaluminiumhydrid wird der Pyridiniumring von 42 zum entsprechenden 1,2-Dihydropyridin 43 reduziert. Dieses Enamin lagert beim Ansäuern ein Proton in β -Stellung an. Das dabei entstehende Carbonium-Immoniumion greift den Indolring elektrophil an. Dehydrierung des Cyclisierungsproduktes 44 mit Palladium und Maleinsäure führt zum Dihydroflavopereirin. Unsymmetrisch substituierte Pyridiniumsalze werden an dem α -C-Atom reduziert, das dem Substituenten benachbart ist. Als Folge davon steht der Substituent beim Ringschlußprodukt 44 auf der dem

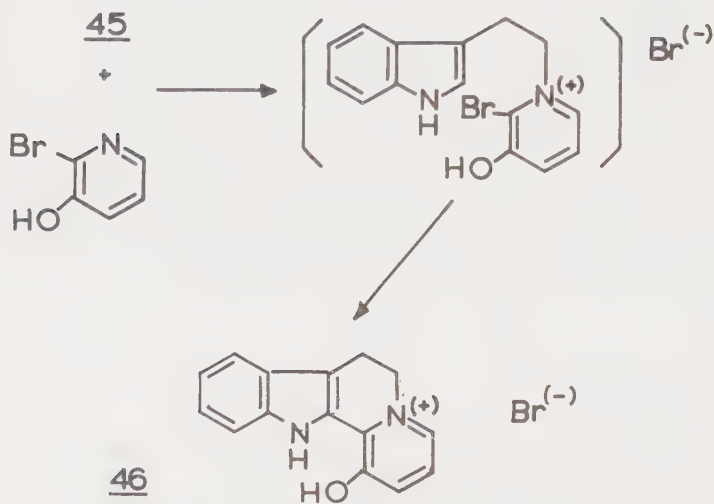
Indolring abgewandten Seite. Daher läßt sich das Benzocarbolin 36 auf diesem Wege nicht synthetisieren.

Nach einer modifizierten Methode gelang es Y.Ban und M.Seo ⁵⁰⁾, Dihydroflavopereirin (37) in einem Schritt aus Tryptophylbromid (45) und 2-Halogen-5-äthylpyridin herzustellen. Bei der Reaktion wird als Zwischenstufe 2-Halogen-5-äthyl-1-[2-(3-indolyl)-äthyl]-pyridiniumbromid durchlaufen, das spontan zu 37 cyclisiert.



Für X wurden verschiedene Halogene eingesetzt. Dabei war eine Steigerung der Ausbeute in der Reihe Chlor, Brom, Jod zu verzeichnen. Bei Verwendung von Benzol als Lösungsmittel ließ sich die Ausbeute durch Zugabe von Aluminiumchlorid weiter optimieren. Zur Darstellung von Verbindung 36 arbeitete ich analog der Arbeitsvorschrift von Ban und Seo. Um die OH-Gruppe an die dem Indolring zugewandten Seite des Pyridinringes zu bringen, setzte ich 2-Brom-3-hydroxypyridin ein. Diese Substanz ist durch direkte Bromierung von 3-Hydroxypyridin im

Alkalischen leicht zugänglich ⁵¹⁾.

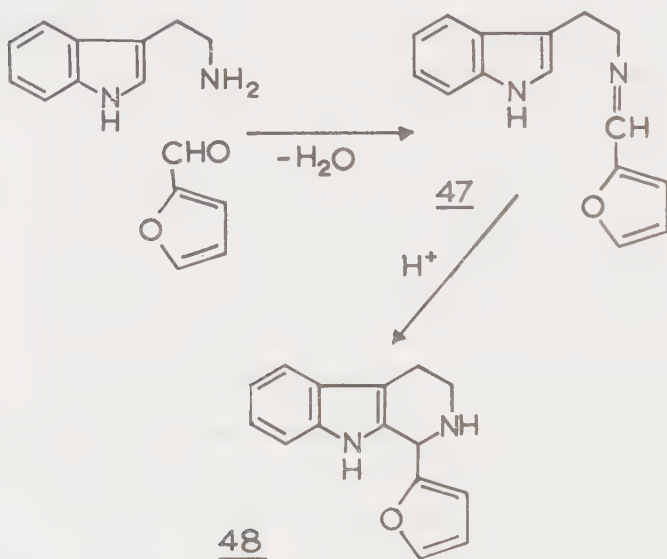


Ban und Seo hatten Tryptophylbromid mit der zweifachen molaren Menge 2-Brom-5-äthylpyridin und Aluminiumchlorid fünf Stunden in Benzol gekocht. Unter diesen Bedingungen erhielt ich nur geringe Mengen an Verbindung 36. Auch ist der Einfluß des Katalysators auf die Ausbeute gering. Erst bei Verwendung von Äthanol als Solvens können hohe Ausbeuten erzielt werden. Der Zusatz von Aluminiumchlorid erübrigt sich dann. Nach zwanzigstündigem Sieden scheiden sich gelbe Kristalle ab, die aus dem Bromsalz 46 des Benzocarbols 36 bestehen. Die Lösung ist dunkelgelb gefärbt. Zur Überführung des Salzes in die zwitterionische Form und zur Abtrennung der Verunreinigungen ist es zweckmäßig, die äthanolische Lösung an präparativen Kieselgelschichten zu chromato-

grafieren. Beim Entwickeln mit dem Fließmittelsystem Aceton/Chloroform/Ammoniak (60/20/10) erscheint 36 in der unteren Hälfte der PSC-Platte als leuchtend gelbe Zone. Man erhält so das Benzocarbolin 36 in ca. 75%iger Ausbeute. Die auf diese Weise synthetisierte Verbindung und das durch Umsetzung von Tryptamin mit Xylose gewonnene Produkt erweisen sich nach den IR-, NMR- und Massenspektren als identisch.

Interessant schien nun die Frage nach möglichen Vorstufen oder Zwischenprodukten bei der Bildung von 36 aus Pentosen und Tryptamin. Bei Bräunungsreaktionen reagieren nicht nur Zucker, sondern auch Zuckerumwandlungsprodukte mit Aminen. Da die Furfurolbildung aus Pentosen eine dominierende Stellung einnimmt, wäre die Möglichkeit gegeben, daß Tryptamin zunächst mit Furfurol in Reaktion tritt. Um dies zu prüfen, erhitzte ich äquimolare Mengen der beiden Komponenten mit Wasser im Bombenrohr drei Stunden auf 160°. Im Methylenchloridextrakt der gelb gefärbten Lösung ließ sich dünnschichtchromatografisch tatsächlich 36 nachweisen. Dagegen brachte ein Versuch, bei dem die beiden Reaktanten in Toluol mehrere Stunden zum Sieden erhitzt wurden, ein negatives Ergebnis. Bei der Umsetzung im wäßrigen Medium kann man als Primärschritt die Bildung der Schiff-schen Base annehmen. Ein entsprechender Versuch, bei dem Furfurylidentryptamin (47) in Wasser drei Stunden auf 160° erhitzt wurde, bestätigte die Vermutung, denn auch in diesem Reaktionsgemisch war 36 enthalten.

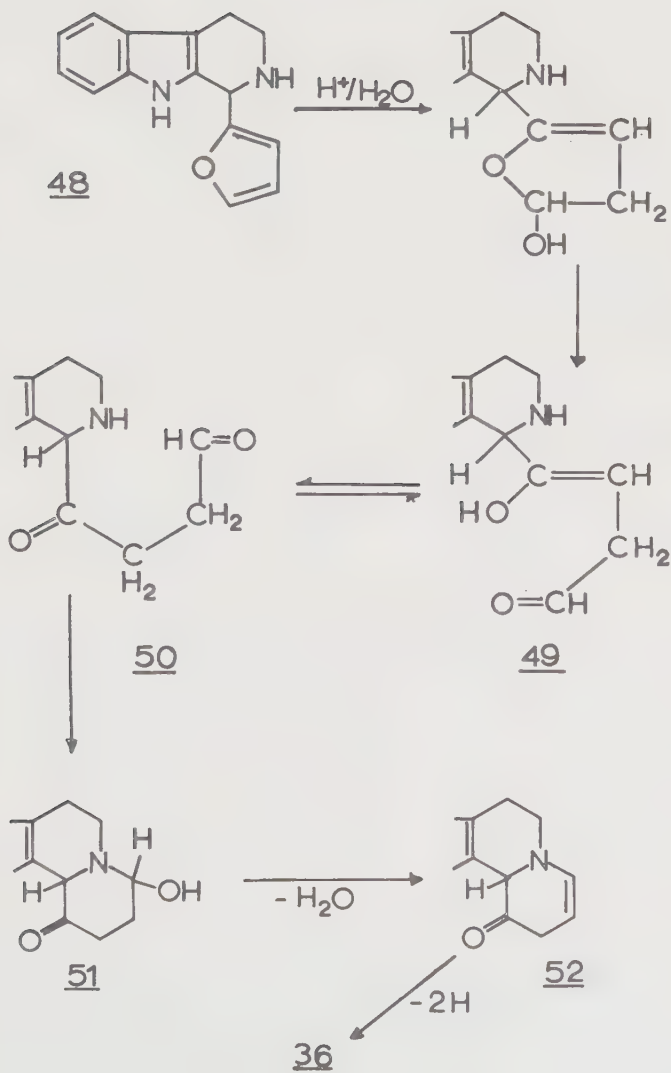
Th. Severin und B. Heidenhain ⁴⁰⁾ konnten zeigen, daß beim Erhitzen von Furfurol, Tryptamin und Essigsäure bzw. Furfurylidentryptamin (47) und Essigsäure in Äthylenglycoldimethyläther auf 150° 1-[Furyl-(2)]-1,2,3,4-tetrahydro-β-carbolin (48) entsteht.



Die Bildung von 48 unter Bedingungen, die den von mir gewählten äußerst ähnlich sind, führt zu dem Schluß, daß auch Furyltetrahydrocarbolin eine mögliche Zwischenstufe bei der Entstehung von 36 ist. Das bestätigten entsprechende Versuche, wobei 48 in Wasser allein, sowie mit Zusatz von Essigsäure oder Methylamin auf 160° erhitzt wurde.

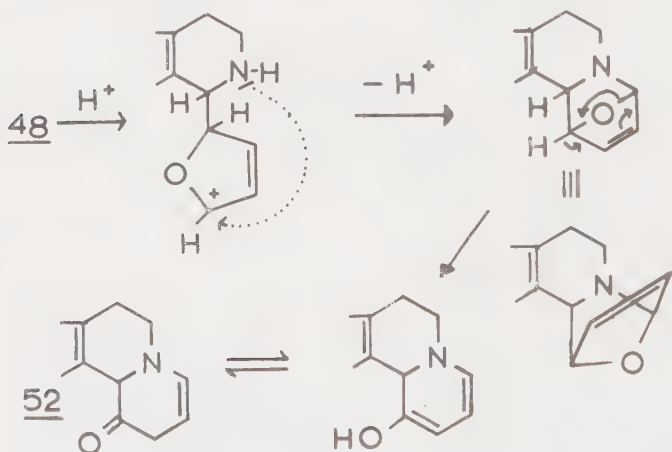
Unter Berücksichtigung dieser Fakten läßt sich zur Synthese von 36 aus Tryptamin und Xylose folgender Reaktionsmechanismus aufstellen (Schema 2):

SCHEMA 2



Das Xyloseumwandlungsprodukt Furfurol bildet mit Tryptamin Furfyltetrahydrocarbolin (48) . Die Protonierung des Furanringes am C 3-Atom ermöglicht die Anlagerung eines Hydroxylions an C 2. Anschließend Ringöffnung und Tautomerisierung führt über das Enol 49 zur Diketoverbindung 50. Die endständige Carbonylgruppe von 50 greift den basischeren Stickstoff nukleophil an. Das so entstandene tetracyclische Produkt 51 spaltet Wasser ab. Schließlich erfolgt Dehydrierung von 52, die zum Benzocarbolin 36 führt.

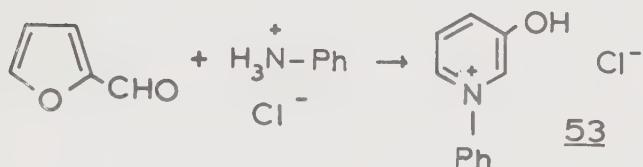
Für die Bildung von 36 ist ein weiterer Mechanismus denkbar:



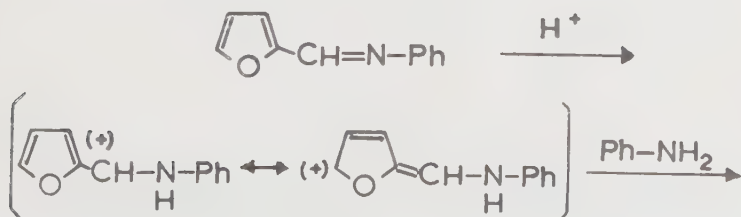
Die Protonierung des Furanringes ist auch an dem C-Atom möglich, das mit dem Carbolingerüst verknüpft ist. Der Stickstoff des Tetrahydropyridinringes kann sich an das Carbonium-Oxoniumion nukleophil addieren. Dabei bildet sich ein neuer Sechsring, der durch den

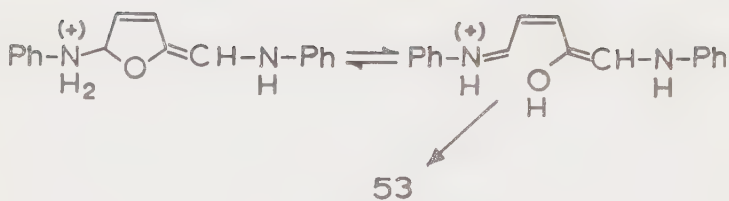
Furänsauerstoff überbrückt wird. Die Öffnung der beiden Fünfringe vollzieht sich in der mit Pfeilen angedeuteten Weise. Das so entstandene Carbolinsystem 52 reagiert wie in Schema 2 aufgezeigt weiter.

Ähnliche Reaktionen, bei denen aus Furfurol und aromatischen Aminen 3-Hydroxypyridiniumsalze entstehen, sind in der organischen Chemie lange bekannt. Schon 1905 berichteten Th.Zincke und G.Mühlhausen ⁵²⁾ über die Synthese von 1-Phenyl-3-hydroxypyridiniumsalzen (53) aus Anilin bzw. Anilinhydrochlorid und Furfurol.

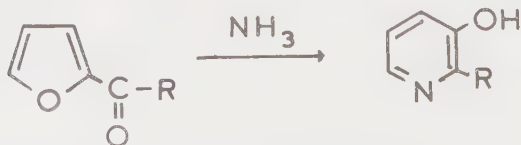


Nach den Untersuchungen von W.M.Foley und Mitarbeitern ⁵³⁾ erfolgt die Öffnung des Furanringes durch die Addition eines Mols Anilin an die primär gebildete Schiff'sche Base.



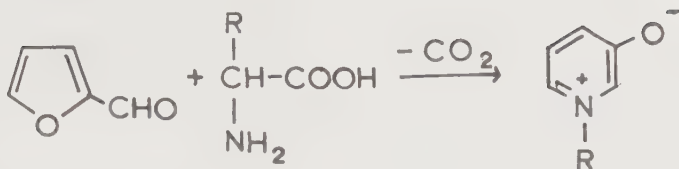


Auf die Reaktion von Furfurol mit Ammoniak führt K.Aso ⁵⁴⁾ die Entstehung von 3-Hydroxypyridin zurück, das er in geringen Mengen aus Hydrolyseprodukten von Algen isolierte. Die Hydrolyse wurde bei 160° im Autoklaven mit verdünnter Schwefelsäure durchgeführt. Unter diesen Bedingungen kann Furfurol aus Alginsäuren und Ammoniak aus den Stickstoffverbindungen gebildet werden. In neuester Zeit ⁵⁵⁾ hat man 3-Hydroxypyridin in gerösteter Gerste nachgewiesen. Auch in diesem Fall ist die Verbindung als Produkt der Reaktion von Furfurol mit Ammoniak aufzufassen. H.Williams und Mitarbeiter ⁵⁶⁾ fanden, daß sich 2-Acylfurane mit Ammoniak in die korrespondierenden 2-substituierten 3-Hydroxypyridine umlagern lassen.

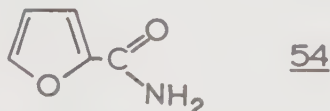


Noch nicht beschrieben ist die Umsetzung von aliphatischen Aminen mit Furfurol. Nach den angeführten Befunden ist zu erwarten, daß Aminosäuren bei höherer Temperatur unter Decarboxylierung mit dem bei Bräunungsreaktionen entstehenden Furfurol zu N-Alkyl-3-hydroxy-

pyridiniumbetainen reagieren.



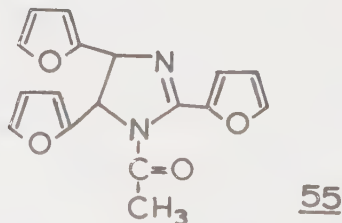
Um dies zu prüfen habe ich bisher nur einige orientierende Versuche angestellt. Zur Ermittlung geeigneter Reaktionsbedingungen und Aufarbeitungsmethoden wurde als Aminosäurekomponente zunächst Ammoniak eingesetzt. Dazu erhitzte ich eine wäßrige Lösung von Furfurol, Ammoniumchlorid und Ammoniak im Bombenrohr fünf Stunden auf 160°. Die tiefbraune Lösung wurde mit Methylenchlorid extrahiert und der Auszug dünnenschichtchromatographisch auf die Anwesenheit von 3-Hydroxypyridin geprüft. In dem komplex zusammengesetzten braunen Extrakt konnte jedoch 3-Hydroxypyridin nicht nachgewiesen werden. Es gelang aber, aus dem Auszug durch Chromatografieren an präparativen Kieselgelschichten und durch Hochvakuumsublimation eine kristalline Substanz zu isolieren. Sie wurde durch Elementaranalyse, IR- und Massenspektrum als Brenzschleimsäureamid (54) identifiziert.



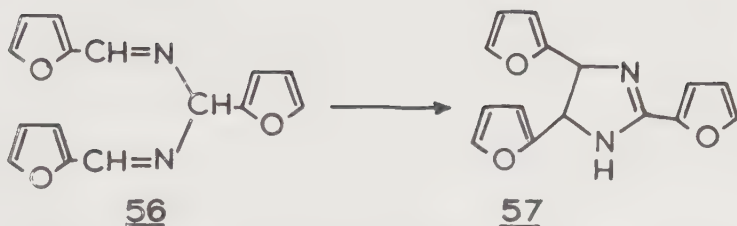
Die Bildung von 54 ist bei den gewählten Reaktionsbedingungen nichts Überraschendes. Es ist bekannt, daß Furfurol im Alkalischen zu 2-Hydroxymethylfuran und Furan-2-carbonsäure disproportioniert. Offenbar

tritt die Disproportionierung bei erhöhter Temperatur auch im Neutralen ein. Bei der angewandten Temperatur kann die Carboxylgruppe mit Ammoniak zum Amid reagieren. Der Versuch wurde unter verschiedenen Bedingungen wiederholt. So wurde die Erhitzungsdauer bis auf zwölf Stunden, die Reaktionstemperatur bis auf 220° gesteigert. In keinem Fall konnte 3-Hydroxypyridin nachgewiesen werden.

Ein etwas abweichendes Ergebnis brachte die Umsetzung mit Ammoniumacetat. Es wurde wiederum mit Furfurol fünf Stunden auf 160° erhitzt. Mit Methylenchlorid ließ sich aus der braunen Reaktionslösung ein Öl extrahieren, das in Dünnschichtchromatogrammen keine definierten Flecken zeigte. Durch Hochvakuumsublimation konnten daraus farblose Kristalle isoliert werden. Die so erhaltene Verbindung wurde als Acetylfurfurin (55) identifiziert.



Acetylfurfurin stellte R.Schiff ⁵⁷⁾ auf folgendem Wege dar: Furfurol und Ammoniak reagieren bei mehr-tägigem Stehenlassen zu Furfuramid (56), das beim Kochen mit verdünnter Kalilauge Furfurin (57) bildet.



Schwaches Erwärmen von 57 in Acetanhydrid führt zum Acetylfurfurin.

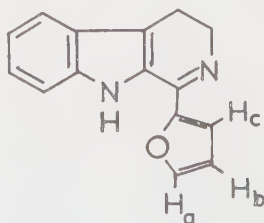
Von den bei der Hochvakuumdestillation ölig übergegangenen Anteilen wurden Dünnschichtchromatogramme hergestellt. Sie zeigten im Licht der Wellenlänge 350 mμ einen blau fluoreszierenden Fleck. Die ihm zugeordnete Substanz konnte durch präparative Schichtchromatografie in geringer Menge kristallin erhalten werden. Sie war im Hochvakuum sublimierbar und besaß einen Schmelzpunkt von 200°. Laut Massenspektrum betrug das Molekulargewicht 268. Weitere Untersuchungen stellte ich wegen der geringen Ausbeute nicht an.

Die Versuche schließen nicht aus, daß 3-Hydroxypyridin gebildet wird. Es könnte als Phenol mit Carbonylgruppen weiterreagieren und sich so der Isolierung entziehen. Somit bleibt die Frage nach seiner Entstehung offen.

Bekanntlich werden bei der Maillard-Reaktion stark reduzierende Substanzen mit Reduktoncharakter gebildet. Da anzunehmen ist, daß derartige Reduktone auch das Benzocarbolin 36 angreifen können, wurde dessen Verhalten gegenüber Reduktionsmitteln geprüft. Pyridiniumsalze reagieren leicht mit Hydridionen.

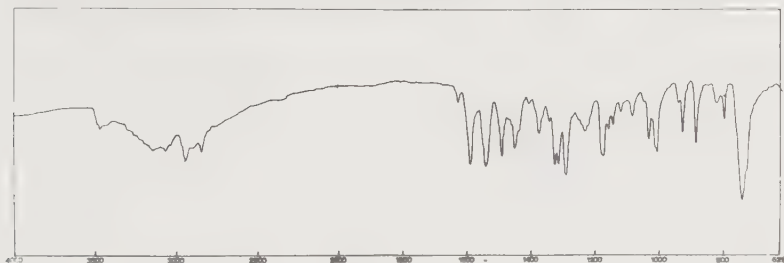
Daher kann man erwarten, daß auch 36 durch die Pyridiniumstruktur des Gerüsts erhöhte Reaktivität gegenüber Hydridionen besitzt. Wider Erwarten wurde 36 weder mit Lithiumaluminiumhydrid noch mit Natriumborhydrid verändert. Man kann daraus schließen, daß reduzierende Zuckerumwandlungsprodukte das Benzocarbolin 36 bei der Bildung aus Tryptamin und Xylose nicht angreifen. Worauf die Resistenz gegenüber Reduktionsmitteln beruht, läßt sich noch nicht erklären.

Ein überraschendes Ergebnis brachte die Oxydation von 36. Die Anwendung von Perjodat, Permanganat, Wasserstoffperoxyd und Bleitetraacetat führte zunächst nur zu braunen Ölen, die auf weitgehende Zerstörung des Gerüsts deuten. Bei Behandlung von 36 mit Chromtrioxyd und Essigsäure jedoch ließ sich eine gelbe Substanz gewinnen, die durch präparative Schichtchromatografie gereinigt werden konnte. Es gelang nicht, sie kristallin zu erhalten. Bei Hochvakuumsublimation erstarrte sie zu einer harten gelben Masse, die dünn-schichtchromatografisch einheitlich war. Die Verbindung wurde durch Elementaranalyse, IR-, NMR- und Massenspektrum als 1-[Furyl-(2)]-3,4-dihydro- β -carbolin (38) identifiziert.



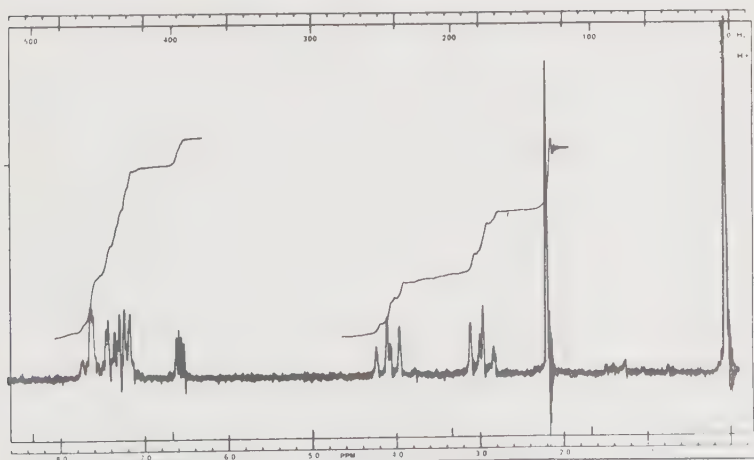
38

Die Summenformel $C_{15}H_{12}N_2O$ ergibt sich aus der Elementaranalyse und dem Molekülpeak des Massenspektrums.



IR-Spektrum von 38 in KBr

Im IR-Spektrum fehlen charakteristische Banden im Bereich von 1600 bis 2800 cm^{-1} , so daß das Vorliegen einer Carbonylgruppe ausgeschlossen werden kann. Die kleine Bande bei 1630 cm^{-1} läßt sich als C=N Absorption interpretieren. Darüber hinaus gibt das Spektrum lediglich Hinweise auf den aromatischen Charakter der Verbindung.



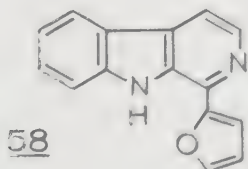
NMR-Spektrum von 38 in Deuteriochloroform (TMS als innerer Standard)

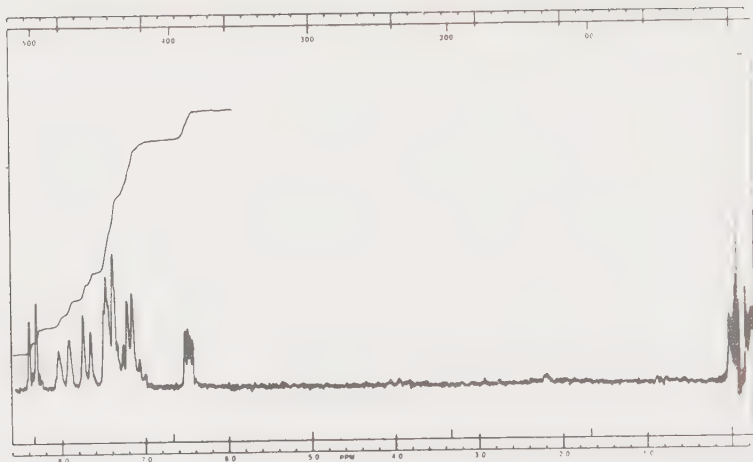
Das NMR-Spektrum läßt die beiden benachbarten Methylengruppen als zwei Triplets mit $J=8\text{Hz}$ erkennen, die bei $5,92\tau$ und $7,09\tau$ zentriert sind. Das Multiplett bei $2,50\tau$ zeigt sechs aromatisch gebundene Protonen an. Bei $3,50\tau$ liegt ein doppeltes Dublett, das dem mittleren Furanproton H_b zukommt. Die Kopplungskonstanten betragen für J_{ab} $1,8\text{ Hz}$ und J_{bc} $3,6\text{ Hz}$. Das Proton H_b des Furanringes läßt sich so gut zuordnen, weil es von den aromatischen Protonen des Indolringes deutlich getrennt erscheint. Die hier angegebenen chemischen Verschiebungen sowie die kleinen Kopplungskonstanten sind charakteristisch für monosubstituierte Furane und ermöglichen das Erkennen eines Furans als Strukturelement. Das Signal bei $7,90\tau$ ist auf eine Verunreinigung des Lösungsmittels zurückzuführen.

Die Tatsache, daß die Verbindungen 36 und 38 die gleiche Bruttozusammensetzung besitzen, zeigt, daß keine Oxydation stattgefunden haben kann. Es scheint vielmehr, daß durch Einwirkung von Säure und Chromtrioxyd eine Öffnung des Pyridinringes und Neuorientierung zum Furanring vollzogen wurde. Versuche, diese Umlagerung mit Essigsäure, Salzsäure oder Lewisäuren wie Zinkchlorid, Silbersalze und Aluminiumchlorid herbeizuführen, schlugen fehl. Lediglich Kochen von Verbindung 36 mit Eisen(III)-chlorid und Salzsäure führten zum Erfolg. Eine sinnvolle Erklärung für die Umlagerung ist schwierig, zumal in der Literatur eine analoge Reaktion noch nicht beschrieben wurde. Der

ungeklärte Mechanismus sollte zu weiteren Untersuchungen der Umlagerungsreaktion anregen.

Es wurde der Versuch gemacht, das Furyltetrahydrocarbolin (38) auf eine andere Art zu synthetisieren. Der Weg zur Darstellung von 3,4-Dihydro- β -carbolinen nach Fischler-Napieralski ³⁷⁾ ³⁸⁾ verläuft über Acylacetate des Tryptamins, die bei erhöhter Temperatur mit Phosphorpentoxyd, Phosphoroxychlorid oder Zinnchlorid intramolekular cyclisiert werden. Das Amid aus Furan-2-carbonsäure und Tryptamin ist aus Breznachleimessigsäureäthylester und Tryptamin leicht darstellbar. Die Cyclisierung dagegen mißlang, was offensichtlich auf die Säurelabilität des Furanringes zurückzuführen ist. Dagegen gelang die Darstellung von 38 durch partielle Dehydrierung von Furyltetrahydrocarbolin (48), mit Quecksilber(II)-äthylendiamintetracetat, einem Reagenz, das u.a. von H.Möhrlie ⁵⁸⁾ erfolgreich zur Dehydrierung von Aminoalkoholen angewandt wurde. Die katalytische Dehydrierung von 38 mit Palladium auf Zinn führt zum 1-[Furyl-(2)]- β -carbolin (58), dessen Struktur durch Elementaranalyse, IR-, NMR- und Massenspektroskopie belegt ist.





NMR-Spektrum von 58 in Deuterochloroform (TMS als innerer Standard)

Ein Vergleich der NMR-Spektren von 58 und 38 macht deutlich, daß die beiden Triplets, die die benachbarten Methylengruppen des Dihydrocarbolins anzeigen, beim aromatischen Carbolin verschwunden sind. Stattdessen finden sich im Spektrum von 58 bei 1,63 τ und 2,26 τ zwei Dubletts mit einer Kopplungskonstanten von 5 Hz, die für die zum Pyridinstickstoff α - und β -ständigen Protonen typisch sind ⁴⁹⁾.

Die Darstellung des l-Furylcarbolins gelingt auch durch katalytische Dehydrierung von l-Furyltetrahydrocarbolin (48) mit Palladium auf Kohle (Bedingungen s. exp. Teil).

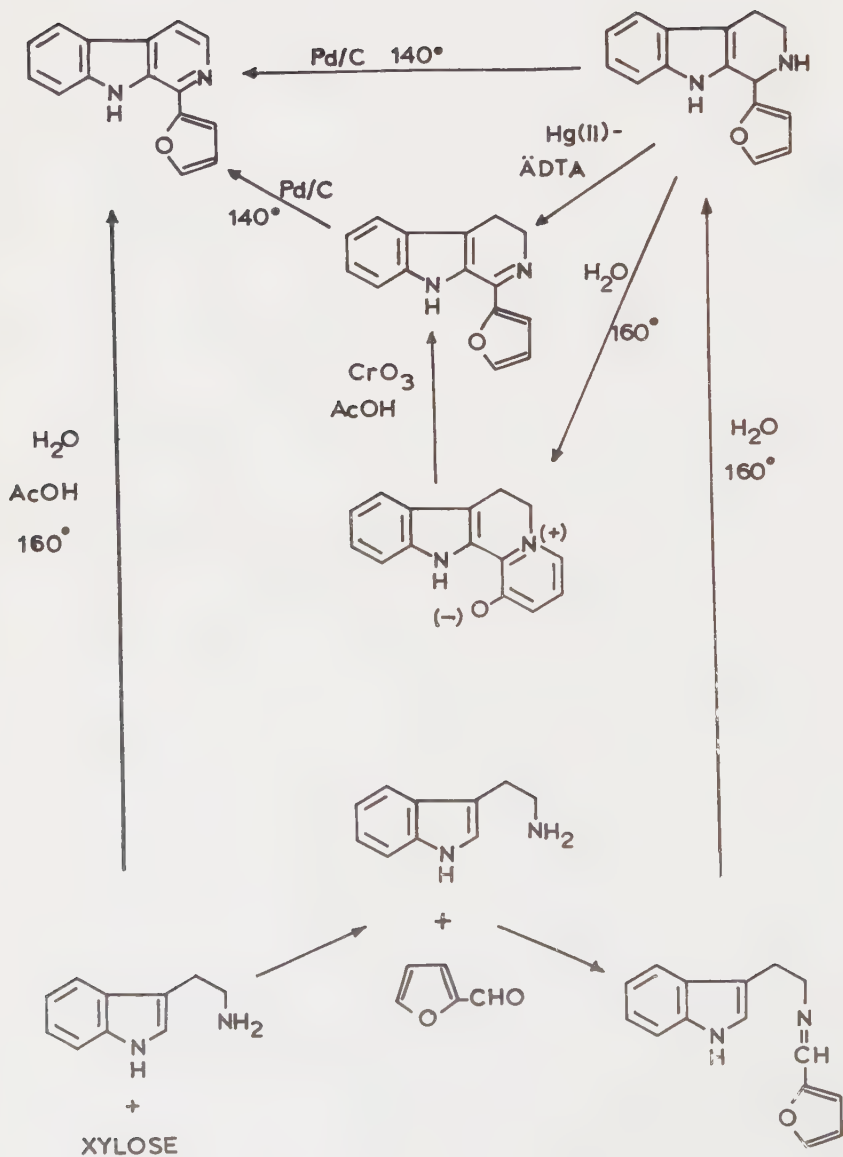
Wie schon eingangs erwähnt erhält man bei der Umsetzung von Tryptaminacetat mit Xylose ein sauer reagierendes Reaktionsgemisch. Neben 4-Hydroxy-5-methyl-2,3-dihydro-furan-3-on (35) und dem Benzocarbolin 36 konnte ich keine weiteren Substanzen rein ab-

trennen. Es könnte möglich sein, durch sorgfältige Dünnschicht- und präparative Schichtchromatografie andere Substanzen zu gewinnen. Diese entstehen aber nur in sehr geringen Mengen.

Der Methylenchloridauszug der alkalisch extrahierten wäßrigen Lösung der Umsetzung von Tryptaminacetat mit Xylose wies in Dünnschichtchromatogrammen eine Reihe von Flecken auf, die im UV-Licht sichtbar waren. Durch präparative Schichtchromatografie ließ sich nur eine kristalline Fraktion gewinnen. Das IR-Spektrum zeigte, daß die so isolierte Substanz mit dem durch Dehydrierung gewonnenen 1-Furyl- β -carbolin (58) identisch war. Die Bildung eines vollständig aromatischen Carbolinsystems ist überraschend. Man sollte erwarten, daß 1-Furyl-tetrahydro- β -carbolin (48) entsteht. Diese Verbindung wurde bereits von B.Heidenhain ⁴¹⁾ durch Umsetzung von Tryptamin mit Furfurol erhalten. Durch welche Substanzen die Dehydrierung bewirkt wird, läßt sich zur Zeit nicht sagen, da aus Zuckern unter Bedingungen der Maillard-Reaktion zu viele Verbindungen gebildet werden. Möglicherweise sind es Dicarbonylverbindungen, die den Wasserstoff aufnehmen. Von Dihydrocarbolinen ist bekannt, daß sie leicht zu Tetrahydrocarbolinen und vollaromatischen Carbolinen disproportionieren.

Im Schema 3 sind die angeführten verschiedenen Reaktionswege zur besseren Übersicht noch einmal aufgezeigt.

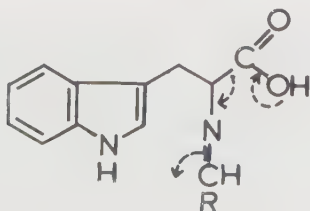
SCHEMA 3



Man sollte annehmen, daß bei der Reaktion von Tryptophan mit Pentosen analoge, wenn nicht gar gleiche Produkte entstehen, wie bei der Umsetzung von Tryptaminacetat mit Pentosen, da die Carboxylgruppe an der Reaktion nicht beteiligt ist. So sind beispielsweise Carboline und Carbolincarbonsäuren zu erwarten.

Die Reaktion von Tryptophan mit Xylose führte ich wieder bei 160° durch. Die weitere Aufarbeitung erfolgte durch Extraktion der wäßrigen Lösung mit Methylenchlorid erst im sauren, dann im alkalischen Milieu. Die Auszüge, die nach dem Entfernen des Lösungsmittels braune Öle lieferten, wurden dünnschichtchromatografisch untersucht.

Durch sorgfältige Chromatografie des sauren Extraktes auf Kieselgel mit verschiedenen Fließmitteln konnte nur eine Substanz rein erhalten werden. Sie erwies sich als identisch mit dem Benzocarbolin 36. Offenbar findet während der Reaktion eine Decarboxylierung statt. Wahrscheinlich unterliegt das Tryptophan nicht der Decarboxylierung, bevor es in die Reaktion eintritt, da reine Aminosäuren erst im Temperaturbereich von 180° bis 200° Kohlendioxyd abspalten. Es ist aber denkbar, daß eine primär gebildete Schiffische Base des Typs 59 leichter decarboxyliert als Tryptophan selbst.



59

Die Aufarbeitung der im Alkalischen extrahierbaren Anteile durch präparative Schichtchromatografie führte zu fünf Verbindungen, die in Substanz isoliert wurden. Abbildung 1 zeigt ein Dünnschicht- und ein präparatives Schichtchromatogramm des alkalischen Extrakts. Die Flecken waren bei Bestrahlen mit Licht der Wellenlänge $350\text{ m}\mu$ durch blaue Fluoreszenz sichtbar.

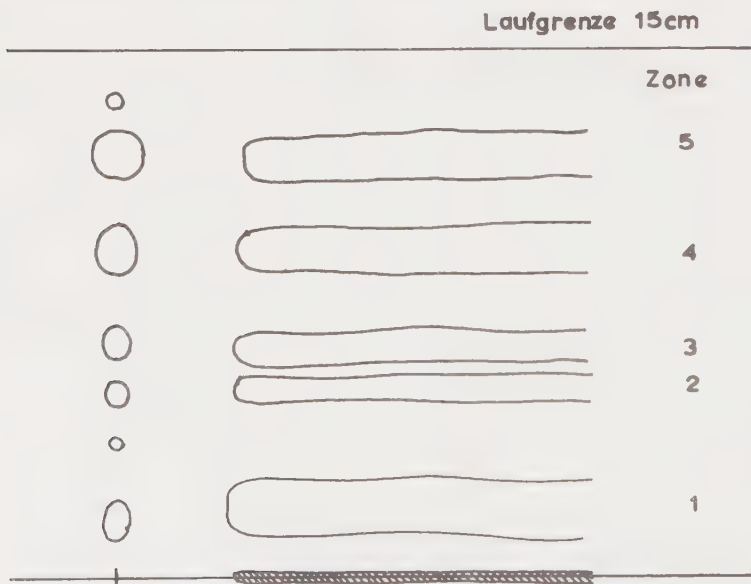
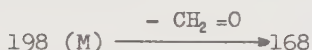


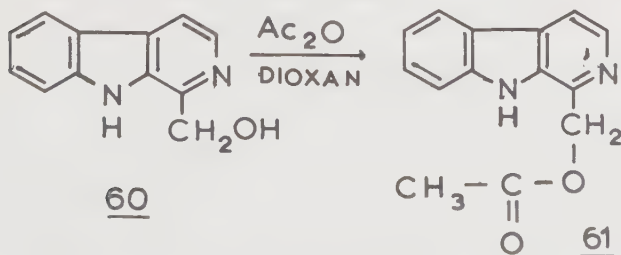
Abb. 1: DC und PSC des Methylenchloridextrakts der alkalisierten wäßrigen Lösung von der Umsetzung Tryptophan/Xylose
Fließmittel: Aceton/Chloroform/Ammoniak (60/20/10)

Die unterste Zone (1) lieferte nach dem Eluieren vom Kieselgel farblose Kristalle, die aus Chloroform um-

kristallisiert wurden. Die dünnschichtchromatografische Untersuchung ergab, daß die Substanz mit einer anderen verunreinigt war. Die Verunreinigung konnte weder durch chromatografische Verfahren noch durch Umkristallisieren entfernt werden. Dadurch war eine exakte Elementaranalyse nicht möglich. Auch ein NMR-Spektrum lieferte keine Anhaltspunkte für Strukturelemente. Das Massenspektrum weist einen Molekülpeak bei 198 auf. Nach Abspaltung von Formaldehyd entsteht ein stabiles Radikalkation mit m/e 168.

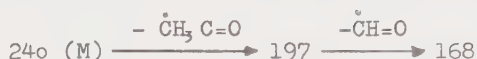


Das Formaldehydbruchstück läßt auf das Vorliegen einer Hydroxymethylgruppe schließen. Die weitere Fragmentierung erfolgt wie beim aromatischen Carbolin (34), was beim Vergleich mit dessen Massenspektrum deutlich wird. Dadurch kann man die Struktur als 1-Hydroxymethyl- β -carbolin (60) festlegen. Die Hydroxylgruppe ist chemisch durch Acetylierung nachweisbar.



Im Massenspektrum von 61 wird die Acetylgruppe in zwei Schritten abgespalten, was zum Radikalkation mit m/e 168 führt. Beim weiteren Abbau treten wieder die für

34 typischen Signale auf.



Nachfolgend sind die Peaksequenzen des aromatischen Carbolins (34), des Hydroxymethylcarbolins (60) und des Acetoxymethylcarbolins (61) aufgeführt.

34: m/e (%) 115(43); 140(44); 141(42); 167(37); 168(100; M⁺)

60: m/e (%) 115(15); 140(16); 141(10); 167(21); 168(30);
198(100; M⁺)

61: m/e (%) 115(6); 140(11); 141(9); 167(17); 168(28);
197(100); 240(100; M⁺)

1-Hydroxymethyl- β -carbolin wurde von B.Kaempe ⁵⁹⁾ beschrieben. Der Autor versuchte es durch Kondensation von Tryptophan mit Glycolaldehyd und anschließender Dichromatoxydation zu synthetisieren. Das veröffentlichte IR-Spektrum ist jedoch von dem der von mir erhaltenen Verbindung (60) verschieden. B.Kaempe konnte keinen schlüssigen Strukturbeweis erbringen. So scheint es fraglich, ob sein Syntheseprodukt überhaupt der Formel 60 entspricht. Beim Nacharbeiten der Arbeitsvorschrift von Kaempe konnte ich in geringer Menge farblose Kristalle isolieren, die aus Indol-3-aldehyd bestanden. Den Nachweis von Hydroxymethylcarbolin konnte ich nicht führen.

Die Bildung von 60 ist als Reaktion des Zuckerabbauproduktes Glycolaldehyd mit Tryptophan zur entsprechenden Tetrahydrocarbolincarbonsäure erklärbar. Anschließende Dehydrierung und Decarboxylierung im Reaktions-

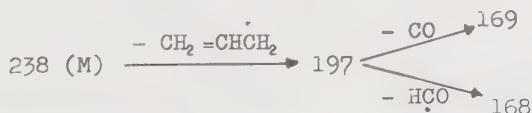
gemisch führt zum Hydroxymethylcarbolin (60).

Bei der Eluierung von Zone 4 fielen Kristalle an, die als aromatisches β -Carbolin (34) erkannt wurden. Die Identifizierung erfolgte durch Vergleich der IR- und Massenspektren mit denen eines nach E.Späth und E.Lederer ⁴³⁾ dargestellten Produktes.

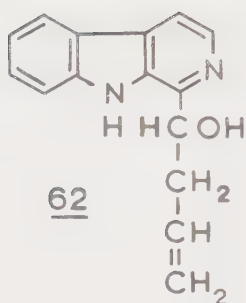
Die in der zweiten Zone enthaltene Substanz konnte nach dem Eluieren vom Kieselgel ebenfalls kristallin gewonnen werden. Das IR-Spektrum (s. exp. Teil) schließt das Vorliegen einer Carbonylgruppe aus. Das Massenspektrum weist folgende wichtige Peaks auf:

m/e (%) 115(26); 140(32); 141(15); 167(46); 168(53);
169(25); 197(100); 238(39; M⁺)

Diese Peakfolge enthält die Fragmente des aromatischen Carbolins (34), so daß man als Grundkörper der Verbindung ein aromatisches Carbolingerüst annehmen kann. Die ersten Übergänge, die vom Molekülpeak ausgehen, zeigen einen 1-Hydroxybuten-3-yl-Rest an.

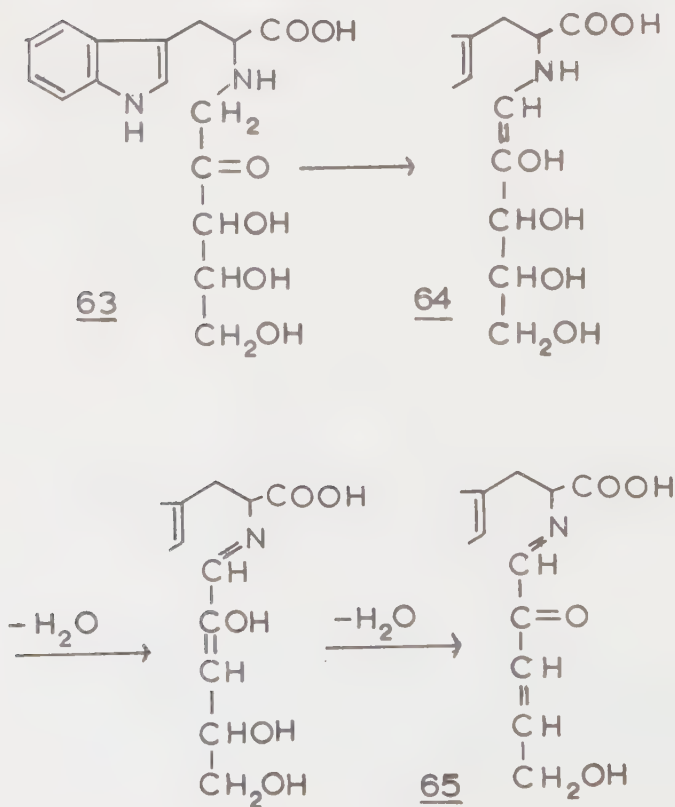


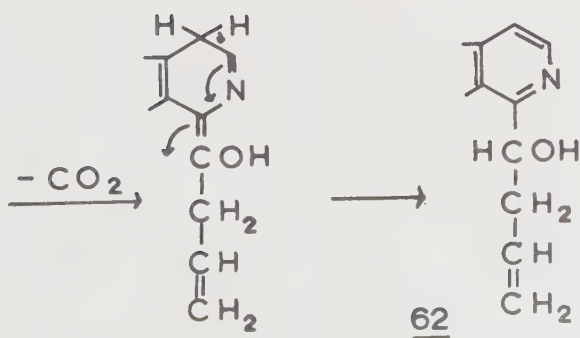
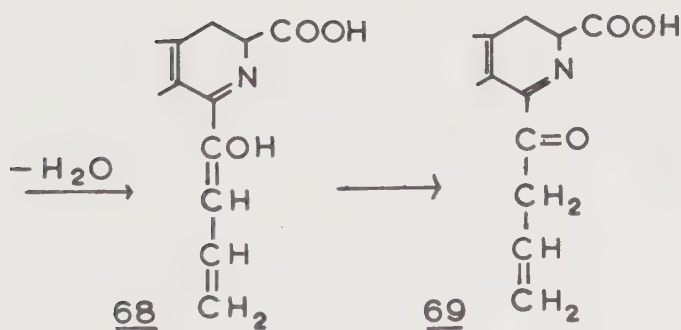
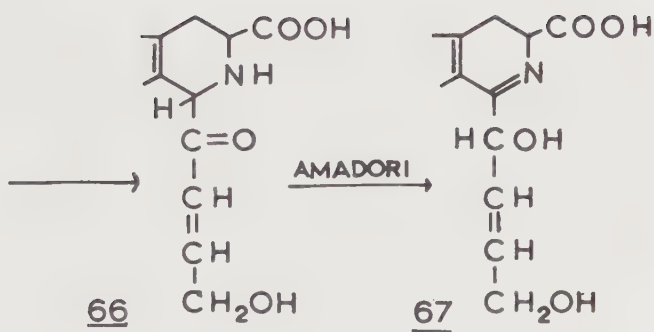
Der isomere 1-Hydroxybuten-2-yl-Rest wäre im Massenspektrum durch die Abspaltung eines Methylradikals dokumentiert. Da die Fragmentierung M-15 fehlt, kann diese Seitenkette mit der mittelständigen Doppelbindung ausgeschlossen werden. Somit läßt sich die Struktur der Verbindung als 1-[1-Hydroxybuten-3-yl]- β -carbolin (62) formulieren.



Für die Bildung von 62 aus Tryptophan und Xylose kann folgender Mechanismus angenommen werden (Schema 4):

SCHEMA 4





Zunächst wird die Xylose umgewandelt, wobei die Aminosäure als unspezifische Aminkomponente fungiert. Die Reaktion läuft in der in Schema 1 angeführten Weise ab, d.h. das primär gebildete Xylose-Tryptophan-Kondensationsprodukt lagert sich in die entsprechende Amadori-Verbindung (63) um. Aus deren Enolform 64 entsteht durch zweimalige Wasserabspaltung 65. Die Folgereaktionen laufen unter Beteiligung des Indolkerns ab. Die Azomethingruppierung von 65 greift den Indolring unter Ausbildung des Tetrahydrocarbolinsystems (66) an. Durch Amadori-Umlagerung bildet sich daraus die Dihydrocarbolinverbindung 67. Die Wasserabspaltung aus der Seitenkette von 67 führt zum Enol 68, das sich zur Keto-Verbindung 69 tautomerisiert. Nach Decarboxylierung des Dihydrocarbolincarbonsäure-Derivats 69 erfolgt die Aromatisierung in der mit Pfeilen angedeuteten Weise zum 1-[1-Hydroxybuten-3-yl]- β -carbolin (62).

Aus den Zonen 3 und 5 wurden ebenfalls farblose kristalline Verbindungen erhalten. Die massenspektrometrisch bestimmten Molekulargewichte betragen 254 bzw. 256. Aus dieser Tatsache und den äußerst ähnlichen IR-Spektren (s. exp. Teil) kann geschlossen werden, daß sich die beiden Verbindungen in der Struktur bis auf zwei Wasserstoffatome gleichen. Nachfolgend sind die Massenspektren in tabellarischer Form wiedergegeben. Substanz aus Zone 3:

m/e (%) 115(11);140(14);141(8);167(12);168(18);182(12);
195(100);254(15;M⁺)

Substanz aus Zone 5:

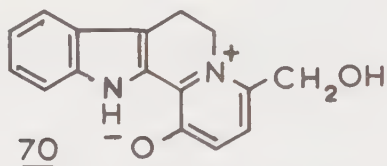
m/e (%) 115(35); 140(39); 141(27); 167(41); 168(53); 182(30);
195(100); 198(94); 256(42; M⁺)

Wie ein Vergleich mit dem Massenspektrum von 34 zeigt, ist auch in diesen Verbindungen der Carbolingrundkörper enthalten. Beide Substanzen unterscheiden sich nur durch Substituenten in 1-Stellung. Genauere Aussagen über deren Strukturen sind durch die Massenspektren allein noch nicht möglich. Zur vollständigen Struktur-
aufklärung sind Elementaranalysen und NMR-Spektren erforderlich, die jedoch wegen den geringen verfügbaren Substanzmengen nicht angefertigt werden konnten. Auch die Struktur 62 sollte durch ein NMR-Spektrum erhärtet werden.

Die Bombenrohre, in denen die Umsetzung durchgeführt wurde, hatten nach Beendigung der Reaktion an der Innenwandung kohleartige Krusten angesetzt. Diese wurden getrocknet, pulverisiert und mit Methanol extrahiert. Aus dem Methanolauszug ließ sich durch präparative Schichtchromatografie eine kristalline Substanz isolieren, die durch Spektrenvergleich als Furylcarbolin (58) erkannt werden konnte.

Hinsichtlich der Bildung von Verbindung 36 verhalten sich also Tryptophan und Tryptamin bei der Reaktion mit Xylose gleich. Es stellte sich nun die Frage, wie Aldohexosen bzw. deren Umwandlungsprodukte wie Hydroxymethylfurfurol mit Tryptamin reagieren würden. Erfolgt die Umsetzung entsprechend der im Schema 2 festgehal-

tenen Weise, dann müßte die der Verbindung 36 analoge Substanz 70 mit einer zusätzlichen Hydroxymethylgruppe entstehen.

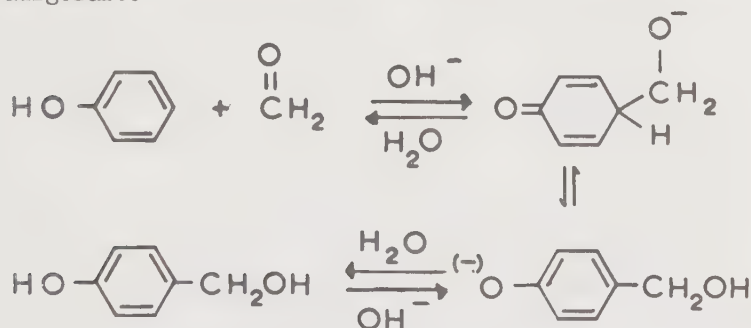


Zur Klärung dieser Frage erhitze ich Tryptaminacetat mit Glucose in wäßriger Lösung wie bei der Umsetzung mit Xylose drei Stunden auf 160°. Anschließend wurde mit Methylenchlorid im Sauren sowie im Alkalischen extrahiert. In den Dünnschichtchromatogrammen des braunen Auszugs der sauren Lösung fand ich einen gelben Fleck, der gleiches Laufverhalten zeigte wie 36. Die durch präparative Schichtchromatografie und Sublimation gereinigte Substanz ergab Spektren, die mit denen der Verbindung 36 vollkommen übereinstimmten. Die zusätzliche Anwesenheit einer Hydroxymethylgruppe hätte sich im Massen- und NMR-Spektrum, aber auch im IR-Spektrum zeigen müssen.

Dieses überraschende Ergebnis könnte auf der von E.Erdmann ⁶⁰⁾ beobachteten Reaktion beruhen, wonach Hydroxymethylfurfurol beim Erhitzen Formaldehyd unter Bildung von Furfurol abspaltet. Nach Befunden von K.Heyns und Mitarbeitern ⁶¹⁾ entsteht Furfurol auch bei der Pyrolyse von Glucose. Dennoch ist anzunehmen, daß unter den oben beschriebenen Reaktionsbedingungen die Furfurolbildung eine untergeordnete Rolle spielt. Demnach müßte

die Abspaltung der Hydroxymethylgruppe aus dem erwarteten Endprodukt 70 stattgefunden haben.

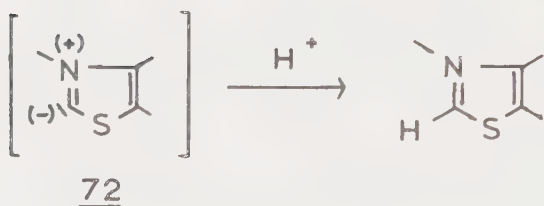
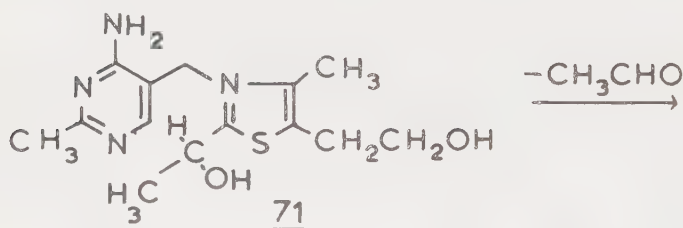
In diesem Zusammenhang sei auf die Lederer-Manasse-Reaktion ⁶²⁾ verwiesen, die zur Darstellung von p-Hydroxybenzylalkohol aus Phenol und Formaldehyd unter Einwirkung verdünnter Alkalien dient. Sie wird als Substitutionsreaktion am Phenolatanion in der o- und p-Stellung aufgefaßt.



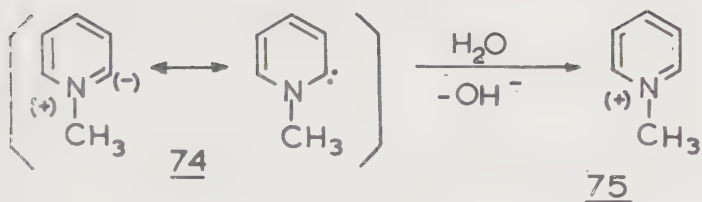
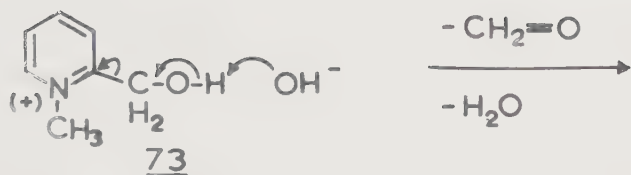
Unter geeigneten Reaktionsbedingungen läßt sich p-Hydroxybenzylalkohol isolieren. Die Reaktion ist als Gleichgewicht formuliert und erklärt die Formaldehydabspaltung, die auch aus Phenol-Formaldehydharzen beobachtet wurde ⁶³⁾. In Verbindung 70 liegt im Pyridiniumring das stickstoffanaloge Strukturelement des p-Hydroxybenzylalkohols vor, so daß die Eliminierung von Formaldehyd aus 70 unter Entstehung von 36 verständlich wird.

Auf einer ähnlichen Abspaltungsreaktion beruht die biologische Aktivität des Thiamins. Der "aktive Acetaldehyd" (71) vermag Acetaldehyd abzugeben, wofür nach

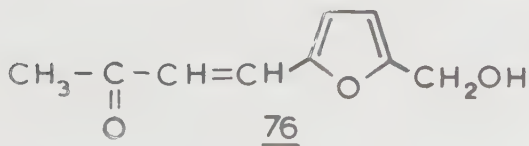
R.Breslow ⁶⁴⁾ die Stabilität des Zwitterions 72 verantwortlich ist.



Nach den theoretischen Untersuchungen von H.C.Longuet-Higgins ⁶⁵⁾ gleicht Thiophen dem Benzol. Daraus läßt sich die Ähnlichkeit zwischen dem Thiazolring und dem Pyridinring ableiten, die den Schluß rechtfertigt, daß die Abspaltungen von Acetaldehyd aus 71 und Formaldehyd aus 70 nach dem gleichen Mechanismus verlaufen. Gestützt wird diese Überlegung durch die Beobachtungen von S.Golding und A.R.Katritzky ⁶⁶⁾, wonach 2-Hydroxymethyl-1-methyl-pyridiniumjodid (73) bei mehrstündigem Erhitzen auf dem Wasserbad in Natriumcarbonat-Pufferlösung 1-Methyl-pyridiniumionen (75) bildet. Die Autoren führen die Formaldehydabspaltung auf das relativ stabile Pyridiniumzwitterion 74 zurück.



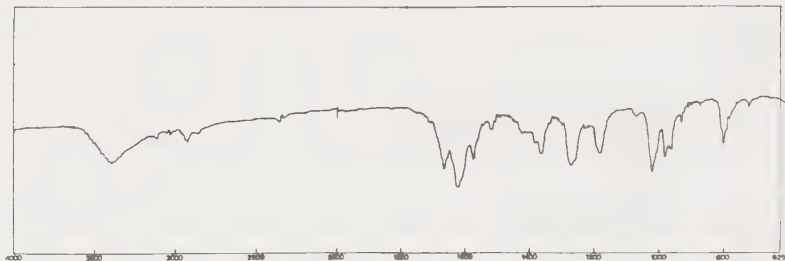
Bei der weiteren dünn-schichtchromatografischen Untersuchung des sauren Methylenchloridextraktes fiel im Licht der Wellenlänge $254 \text{ m}\mu$ ein Fleck auf, der auf mit Essigester entwickelten Kieselgelplatten den R_f -Wert 0,5 besaß. Durch mehrmaliges Chromatografieren an präparativen Kieselgelschichten ließ sich die Substanz von den braunen Verunreinigungen abtrennen und durch Hochvakuumsublimation weiter reinigen. Die so erhaltenen farblosen Kristalle wurden als 2-Hydroxymethyl-5-[3-oxobuten-1-yl]-furan (76) erkannt. Elementaranalyse und Massenspektrum ergaben die Bruttoszusammensetzung $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$ und das Molekulargewicht 166.



Das Massenspektrum (s. exp. Teil) liefert weitere Informationen. Aus dem Molekülion wird zunächst ein Hydroxymethylradikal abgespalten. Dadurch entsteht ein relativ stabiles Kation, das dem Basispeak m/e 135 entspricht. Die sich daran anschließende Abspaltung von Kohlenmonoxyd ist typisch für aromatisch gebundenen Sauerstoff, wie er beispielsweise im Furan vorliegt.



Die Formulierung weiterer Zerfallsprodukte ist schwierig. Eine konkrete Aussage läßt der Peak bei $m/e=67$ zu, der durch ein Furylradikal verursacht wird und damit den Furangrundkörper dokumentiert.

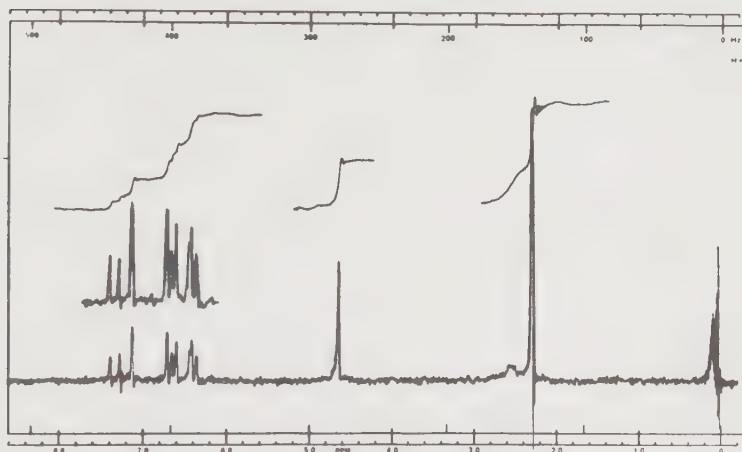


IR-Spektrum von 76 in KBr

Die breite Bande bei 3400 cm^{-1} im IR-Spektrum zeigt eine OH-Gruppe an. Bei 1620 cm^{-1} liegt die durch Konjugation stark verschobene Carbonylbände.

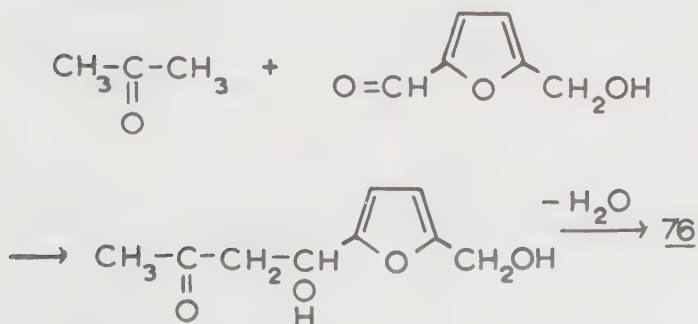
Im NMR-Spektrum liegt das Signal der Methylgruppe bei $7,72 \tau$. Bei $5,33 \tau$ erscheint das der Methylengruppe zuzuordnende Signal. Im Olefinbereich fallen die beiden Dubletts, die bei $2,70 \tau$ und $3,43 \tau$ zentriert sind, durch ihre große Kopplungskonstante von 16 Hz auf.

Man kann daraus auf trans-ständige Äthylenprotonen schließen. Zwei andere Dubletts bei δ 3,40 τ und δ 3,63 τ zeigen mit ihrer Kopplungskonstanten von 3,5 Hz die Furanprotonen an C 3 und C 4 des Furanringes an ⁴⁹).



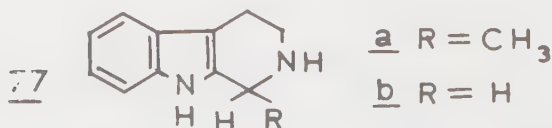
NMR-Spektrum von 76 in Deuteriochloroform (TMS als innerer Standard)

Die Bildung von 76 erklärt sich durch Aldolkondensation von Hydroxymethylfurfurol mit Aceton.



Beide Ausgangssubstanzen können beim Glucoseabbau entstehen. K. Heyns und Mitarbeiter ⁶¹⁾ wiesen Aceton als Pyrolyseprodukt von Glucose nach. Es wurde auch als Komponente in den Aromen hitzebearbeiteter Lebensmittel aufgefunden, so z.B. in gerösteten Erdnüssen ⁶⁷⁾, in der Brotkruste ⁶⁸⁾ und im Malzaroma ⁶⁹⁾, um nur einige Beispiele zu nennen.

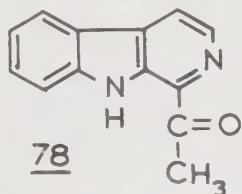
Der Methylenchloridextrakt der alkalisierten Reaktionslösung enthielt braune höhermolekulare Bestandteile, die bei der chromatografischen Abtrennung definierter Produkte störten. Daher wurde er der Hochvakuumdestillation unterworfen, wobei ein mit Kristallen durchsetztes gelbes Öl überging. Der chromatografischen Analyse nach bestand es im wesentlichen aus zwei Substanzen, die durch Trennung an präparativen Kieselgelschichten kristallin erhalten wurden. Sie konnten durch Elementaranalysen, IR-, NMR- und Massenspektren als die in der Literatur schon lange beschriebenen Verbindungen 1-Methyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin (77a) ⁷⁰⁾ und 1,2,3,4-Tetrahydro- β -carbolin (77b) ⁴³⁾ identifiziert werden.



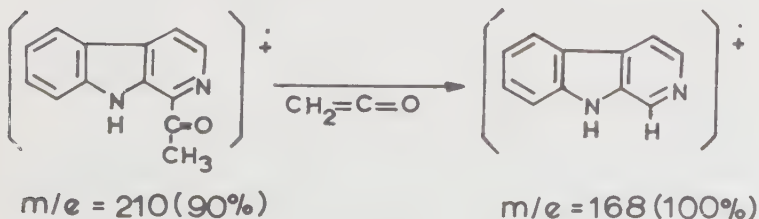
Ihre Bildung erfordert die Anwesenheit von Acetaldehyd bzw. Formaldehyd, die sich im Sinne einer Pictet-Spengler-Reaktion mit Tryptamin zu den Carbolinen um-

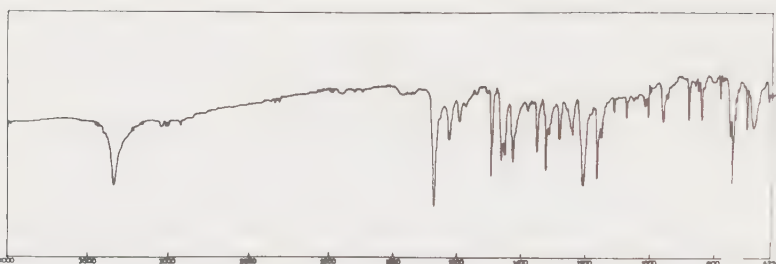
setzen. Beide Aldehyde entstehen beim Zuckerabbau.

Der verkohlte schwarze Rückstand in den Bombenrohren wurde mit Methylenchlorid extrahiert. Nach Abziehen des Lösungsmittels blieb ein dunkelbraunes Öl zurück, das der Hochvakuumdestillation bei 0,1 Torr unterworfen wurde. Dabei sublimierten mit Öl durchsetzte Kristalle über, die sich durch Umkristallisieren aus Äthanol reinigen ließen. Aus den Spektren folgt, daß es sich um 1-Acetyl- β -carbolin (78) handelt.



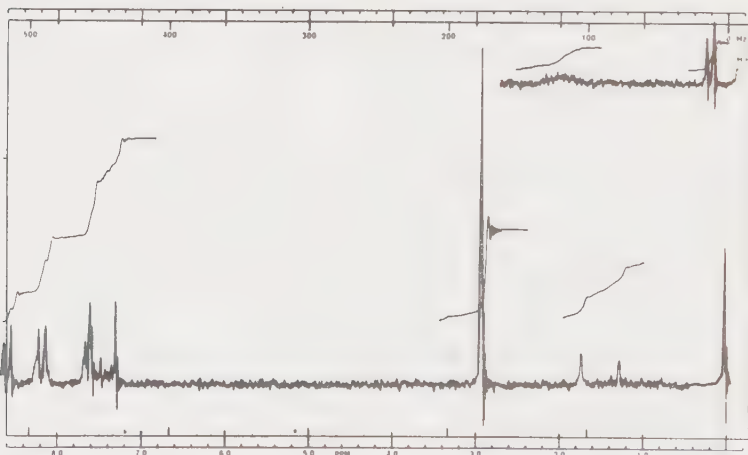
Durch Elementaranalyse und Massenspektrum kann man die Bruttoformel $C_{13}H_{10}N_2O$ festlegen. Das Massenspektrum (s. exp. Teil) liefert Anhaltspunkte für eine aromatische Carbolinstruktur, da nach Abspaltung der Acetylgruppe als Ketenbruchstück das stabile Radikalkation m/e 168 entsteht. Die weitere Fragmentierung erfolgt wie beim Carbolin (34).





IR-Spektrum von 78 in KBr

Die scharfe Bande bei 3340 cm^{-1} , die vom Indol-NH her-
rührt, zeigt, daß keine nennenswerte Wasserstoffbrük-
kenbindung mit der Carbonylgruppe vorhanden ist. Die
Carbonylgruppe erscheint als starke Bande bei 1675 cm^{-1} .



NMR-Spektrum von 78 in Deuteriochloroform (TMS als in-
nerer Standard)

Im NMR-Spektrum liegt das Methylprotonen-Signal bei
 $7,10\tau$. Die beiden Dubletts bei $1,40\tau$ und $1,80\tau$ mit
einer Kopplungskonstanten von 5 Hz lassen sich den bei-
den Protonen des Pyridinringes zuordnen ⁴⁹⁾. Die Er-
hebung bei $-0,60\tau$ zeigt das Proton des Indolstickstoffs
an.

Es ist anzunehmen, daß 78 durch Kondensation von Methylglyoxal mit Tryptamin entsteht. Dabei dürfte sich zunächst eine Schiffsche Base bilden, die zum 1-Acetyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin cyclisiert. Anschließend Dehydrierung führt zu 78. Methylglyoxal tritt bei Bräunungsreaktionen häufig auf und soll bei der Entstehung brauner Pigmente maßgeblich beteiligt sein.

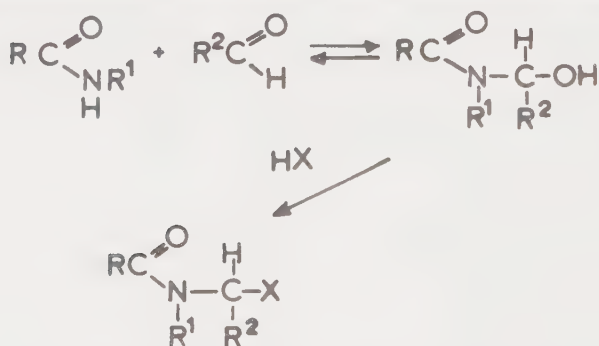
C.Enders und B.Marquardt ⁷¹⁾ konnten diese Dicarbonylverbindung bei der Destillation saurer und neutraler Zuckerlösungen nachweisen, was nach dem eingangs über die Osonbildung Gesagten verständlich ist.

In den meisten Lebensmitteln liegen Aminosäuren oder Amine nur zu einem geringen Teil in freier Form vor. Es war daher wünschenswert, die Reaktionen den natürlichen Gegebenheiten weiter anzupassen, indem eine Modellsubstanz für peptidgebundenes Tryptophan eingesetzt wurde. Dazu schien mir N-Acetyltryptamin (79) geeignet.

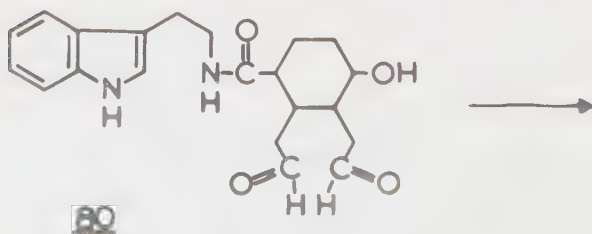


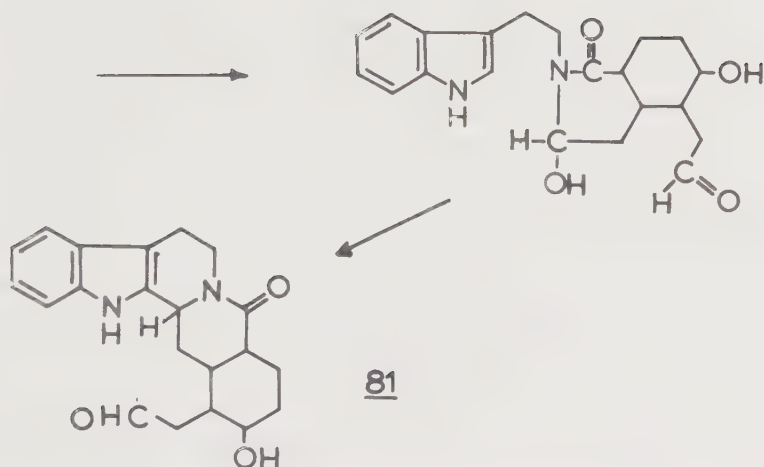
Es ist fraglich, ob bei Bräunungsreaktionen Peptidbindungen von Carbonylverbindungen, die durch Strecker-Abbau von Aminosäuren oder aus Kohlenhydraten entstehen, angegriffen werden können. Große Reaktionsbereitschaft ist dabei nicht zu erwarten, da Säureamide im Vergleich zu Aminen in ihrer Wirkung als Nukleophile geschwächt sind. Die Addition von Aldehyden an Amide erfordert

daher Säure- oder Basenkatalyse und reaktive Carbonylkomponenten ⁷²⁾. Primäre und sekundäre Amide können mit Aldehyden und Ketonen zu N-Acetylcarbinolaminen reagieren. Diese sind im Neutralen und schwach Alkalischen stabil; mit Säuren erfolgt Wasserabspaltung und Addition eines Säureanions nach folgendem Schema:

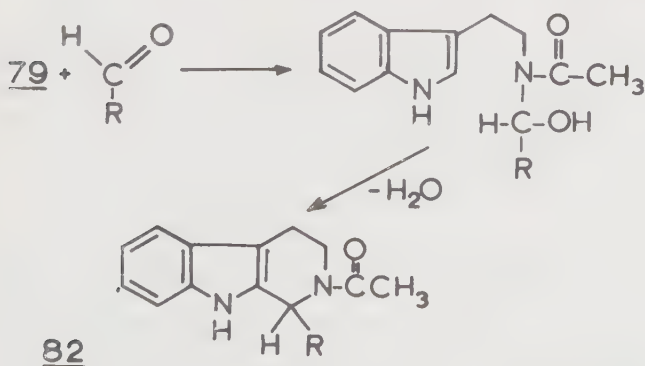


Nach diesem Reaktionsprinzip gelang E.E.van Tamelen und Mitarbeitern die Synthese von Strychnin ^{73a)} und Yohimbin ^{73b)}. Bei letzterer bewirkte ein kurzes Erwärmen des im Reaktionsverlauf auftretenden Dialdehyds 80 in verdünnter Phosphorsäure die Cyclisierung zum pentacyclischen Yohimbingerüst (81).





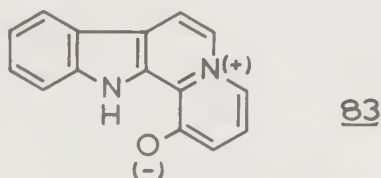
In Anbetracht dieser Reaktion kann man bei den Umsetzungen von Acetyltryptamin (79) mit Carbonylverbindungen in 1-Stellung substituierte 2-Acetyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carboline (82) erwarten.



Da andererseits bei einer Reaktionstemperatur von 160° im wäßrigen Milieu eine hydrolytische Abspaltung des Acetylrestes aus 79 nicht ausgeschlossen werden kann, wäre die Bildung von Produkten möglich, die bei den

Umsetzungen von Tryptamin mit Zuckern nachgewiesen wurden. Zur Klärung dieser Fragen wurden Acetyltryptamin und Xylose mit Wasser im Bombenrohr vier Stunden auf 160° erhitzt. Die Aufarbeitung der gelblich-milchigen Lösung zeigte, daß Acetyltryptamin zum größten Teil unumgesetzt blieb. Daher wurde die Reaktionstemperatur stufenweise gesteigert. Bei 220° waren keine ungelösten Reste von Acetyltryptamin in der tiefgebräunten Lösung mehr vorhanden. Die weitere Auftrennung der mit Methylenchlorid im sauren und alkalischen Milieu extrahierbaren Substanzen erfolgte wie bei den vorangegangenen Versuchen. Dabei konnte dünn-schichtchromatografisch noch relativ viel Ausgangsmaterial (79) nachgewiesen werden. Die methylenchloridlöslichen Anteile der sauren wäßrigen Lösung enthielten größere Mengen Furfurol sowie eine gelbe Substanz, die ähnliche Laufeigenschaften wie Verbindung 36 besaß. Sie konnte durch präparative Schichtchromatografie abgetrennt werden, wobei ein nicht-kristalliner Feststoff entstand. Dieser bildete bei Hochvakuumsublimation einen gelben amorphen Film, der sich dünn-schichtchromatografisch als einheitlich erwies. Sein Molekulargewicht ließ sich durch ein Massenspektrum auf 234 beziffern. Weitere Informationen konnte ich dem Massenspektrum nicht entnehmen. Aus Mangel an Substanz war es nicht möglich, ein NMR-Spektrum und eine Elementaranalyse anzufertigen. Man könnte angesichts der Ausgangsverbindungen und des Molekulargewichts, sowie anhand des der Verbin-

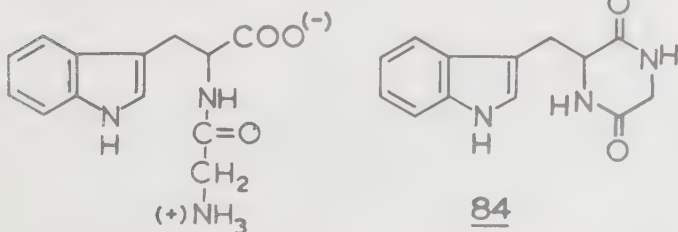
dung 36 ähnlichen Verhaltens beim Chromatografieren annehmen, daß ein Betain der Struktur 83 vorliegt. Dies unterscheidet sich von der Verbindung 36 nur dadurch, daß das Carbolingerüst vollständig in der aromatischen Form vorliegt.



Alle Versuche, 83 durch Dehydrierung des Benzocarbolins 36 darzustellen, mißlingen. Beim Kochen von 36 in Xylol mit Palladium auf Aktivkohle, bei Verwendung von Palladiumschwarz und Maleinsäure sowie mit Tetrachlor-o-benzochinon erhielt ich nur unumgesetztes Ausgangsmaterial.

Auch bei einer analogen Umsetzung von Acetyltryptamin mit Glucose konnte wieder die gelbe Substanz mit der hypothetischen Struktur 83 erhalten werden. Es gelang nicht, aus den übrigen Extrakten weitere definierte Produkte zu gewinnen.

Eine andere Modells substanz für peptidgebundenes Tryptophan ist N-Glycyltryptophan.

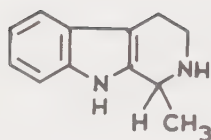


Nach Umsetzung mit Xylose in wäßriger Lösung bei 160° konnte in kristalliner Form lediglich 6-[3-Indolylmethyl]-2,5-diketopiperazin (84) isoliert werden. Da größere Mengen an 84 anfielen, scheint die Bildung dieses cyclischen Säureamids eine vorherrschende Reaktion des Di-peptids zu sein. Nach H.R.Egli ⁷⁴⁾ soll die in Röstarmen häufig aufgefundene Reihe der Pyrazine zum Teil aus Diketopiperazinen entstanden sein. Eigenen Beobachtungen zufolge wird 84 in der wäßrigen Reaktionslösung bei Temperaturen bis 200° nicht verändert. Möglicherweise wird die Diketopiperazinbildung im Proteinverband, wo die Carboxylgruppe als Säureamid vorliegt, verhindert. Daher ist Acetyltryptamin als Modells substanz besser geeignet. Die folgenden Versuche wurden mit Acetyltryptamin angestellt.

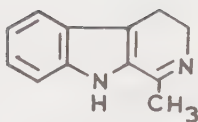
Die Entstehung brauner Pigmente beim Erhitzen von Lebensmitteln kann auch unter Mitwirkung von Fett erreicht werden. Der Einfluß des Fettes auf die Bräunung und Aromabildung wurde von verschiedenen Autoren ⁷⁵⁾ an gekochtem und gebratenem Fleisch untersucht. Nach ihren Beobachtungen entsteht Fleischaroma aus erhitztem tierischen Fett, das mechanisch vom Fleisch abgetrennt wurde. Dem wird von E.L.Pippen et al. ⁷⁶⁾ widersprochen, die aus gewaschenem und filtriertem Geflügelfett beim Erhitzen kein Brataroma erhielten. Durch Zusatz von Aminosäuren fanden sie nur Streckerabbauprodukte, was sie zu dem Schluß veranlaßte, daß Fett lediglich als Aromaträger fungiert. Ohne auf diese unterschiedlichen

Befunde einzugehen, kann man vorhersagen, daß Fett als Ester beim Erhitzen mit Aminen Säureamide bilden wird. Ein entsprechender Versuch, den ich mit Tryptamin und Tributyrin durchführte, ergab Butyryltryptamin. Tryptophan reagierte unter Decarboxylierung in der gleichen Weise. Acyltryptamine lassen sich nach der Bischler-Napieralski-Reaktion bei erhöhter Temperatur mit Lewissäuren zu den entsprechenden 3,4-Dihydrocarbolinen cyclisieren. Es besteht die Möglichkeit, daß diese Cyclisierungsreaktion bei Tryptamin oder Acetyltryptamin in hoch erhitzten Fetten auch ohne Zusatz von Lewissäuren stattfindet.

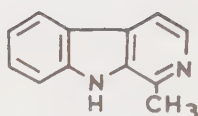
Um dieser Frage nachzugehen, erhitzte ich Acetyltryptamin auf verschieden hohe Temperaturen, wobei ich anfangs Fett zusetzte, um den Bratvorgang zu simulieren. Da aber nach meinen Beobachtungen ein gesättigtes Triglycerid bei Temperaturen bis 250° mit dem acylierten Amin nicht reagiert, verzichtete ich auf den Fettzusatz. Bekanntlich können 3,4-Dihydrocarboline bei erhöhter Temperatur in Tetrahydrocarboline und aromatische Carboline disproportionieren ⁴⁴⁾. Aus diesem Grunde wurden zur dünn-schichtchromatografischen Untersuchung die zu erwartenden 1-Methylcarboline in den drei Oxydationsstufen als Vergleichssubstanzen hergestellt, und zwar 1-Methyl-1,2,3,4-tetrahydrocarbolin (77a) nach S.Akabori ⁷⁰⁾, 1-Methyl-3,4-dihydrocarbolin (28a) und 1-Methylcarbolin (27a) nach E.Späth und E.Lederer ⁷⁷⁾.



77a



28a



27a

Acetyltryptamin wurde jeweils fünf Stunden auf 150°, 200° und 250° erhitzt. Die dabei entstehenden gelben bis braunen zähen Öle destillierte ich zur Abtrennung von höhermolekularen Anteilen bei 0,1 Torr. Bei der dünnschichtchromatografischen Untersuchung der Destillate zeigte sich, daß erst bei 200° bis 250° die Carboline 28a und 27a gebildet wurden (vgl. Abb. 2a und 2b). Das Tetrahydrocarbolin (77a) war nicht nachweisbar. Da in allen Fällen der größte Teil Acetyltryptamin unverändert blieb, muß die Carbolinbildung nur eine untergeordnete Rolle spielen. Das mag dadurch bedingt sein, daß der Ringschluß säurekatalysiert ist und bei den Versuchen säurefrei gearbeitet wurde. Im Fleisch und im Fleischextrakt sind jedoch Nukleinsäuren enthalten, so daß beim Braten säurekatalysierte Reaktionen möglich sind. Aus diesem Grunde ist, um die Modellreaktionen den natürlichen Verhältnissen beim Braten anzugleichen, ein Zusatz von Nukleinsäuren erlaubt. Tatsächlich bewirkte die Zumischung von 10% Inosinsäuremonophosphat eine relative Zunahme der Carbolinflecken, bezogen auf unumgesetzte Ausgangssubstanz.

Für die Reaktion von Acetyltryptamin mit Zuckern unter Bratbedingungen sollten die gleichen Überlegungen gültig

sein wie bei der Umsetzung im wäßrigen Milieu, so daß mit 2-Acetylcannabinolen vom Typ 82 zu rechnen war.

Zur Vereinfachung der Modellreaktion setzte ich statt Zucker zunächst die reaktiveren Carbonylkomponenten p-Chlorbenzaldehyd und Methylglyoxal ein, die ich drei Stunden mit Acetyltryptamin (79) in Xylol gelöst auf 140° erhitzte. Die dünnschichtchromatografische Untersuchung der schwarzbraunen Reaktionslösung zeigte, daß eine weitgehende Zersetzung von 79 stattgefunden haben muß. Offensichtlich greifen diese reaktiven Aldehyde den Indolkern an. Daher schien als Carbonylkomponente der weniger reaktive Benzaldehyd besser geeignet. Zusammen mit Acetyltryptamin ohne Lösungsmittel fünf Stunden lang auf 200°, später auf 250° erhitzt, bildete er ein klares Öl, das sich stark bräunte. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch im Hochvakuum destilliert und das übergegangene gelbe Öl dünnschichtchromatografisch untersucht. In der gleichen Weise wurde ein Blindversuch ohne Benzaldehyd durchgeführt, der sicherstellen sollte, welche zusätzlichen Produkte durch Reaktion mit Benzaldehyd entstanden sind. Das erwartete 1-Phenyl-2-acetyl-1,2,3,4-tetrahydrocannabinol (82; R=Ph) wurde als Vergleichssubstanz nach der Methode von K. Freter et al. ⁷⁸⁾ durch Acetylierung von Phenyl-tetrahydrocannabinol hergestellt.

Die Dünnschichtchromatogramme des Haupt- und Blindversuchs sind in den Abbildungen 2a und 2b wiedergegeben.

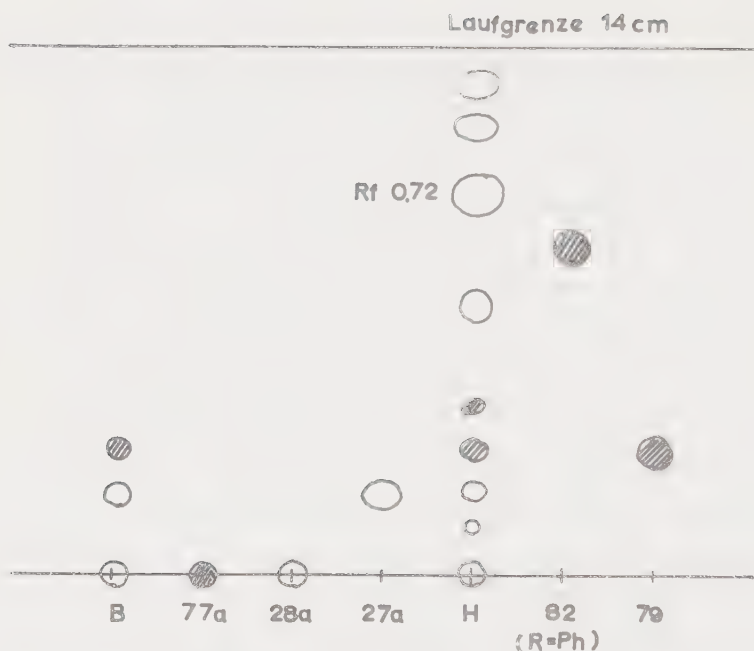


Abbildung 2a: DC des Hochvakuumdestillats der Reaktions-
produkte von Acetyltryptamin mit Benzaldehyd und ohne
Benzaldehyd bei 250°

Fließmittel: Essigester

B = Blindversuch (79 ohne Benzaldehyd)

77a = 1-Methyl-1,2,3,4-tetrahydrocarbolin

28a = 1-Methyl-3,4-dihydrocarbolin

27a = 1-Methylcarbolin

H = Hauptversuch (79 mit Benzaldehyd)

82(R=Ph) = 1-Phenyl-2-acetyl-tetrahydrocarbolin

79 = Acetyltryptamin

 Flecken sichtbar im Licht der Wellenlänge 254 mμ
durch Fluoreszenzlöschung; die übrigen Flecken
sichtbar im Licht der Wellenlänge 350 mμ durch
Fluoreszenz

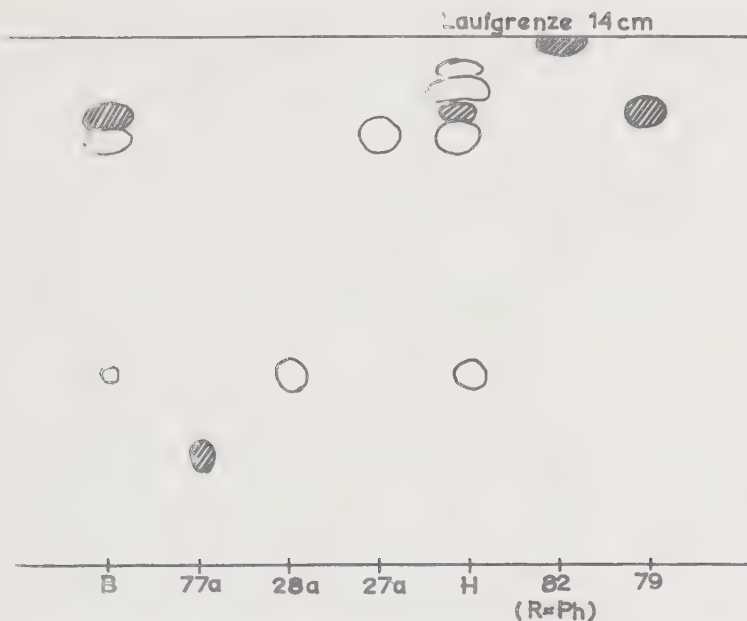
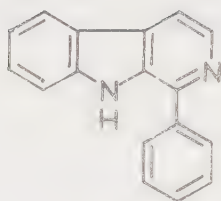


Abbildung 2b: Fließmittel Äthanol/25% Ammoniak (80/20)

Die Chromatogramme zeigen, daß im Haupt- und Blindversuch Methyl-dihydrocarbolin (28a) und Methylcarbolin (27a) gebildet wurden. Der Nachweis des erwarteten Phenylacetyltetrahydrocarbolins (82; R=Ph) gelang dagegen nicht. Bei der Reaktion mit Benzaldehyd entstand eine Substanz, deren Rf-Wert im Fließmittel Essigester 0,72 (Abb. 2a) und im Fließmittel Äthanol/Ammoniak 0,92 (Abb. 2b) betrug. Durch präparative Schichtchromatografie ließ sich die Verbindung kristallin isolieren. Ihre Struktur wurde durch Elementaranalyse, NMR-Spektrum und Vergleich mit den in der Literatur ⁴³⁾ angegebenen Daten als 1-Phenyl- β -carbolin (85) aufge-

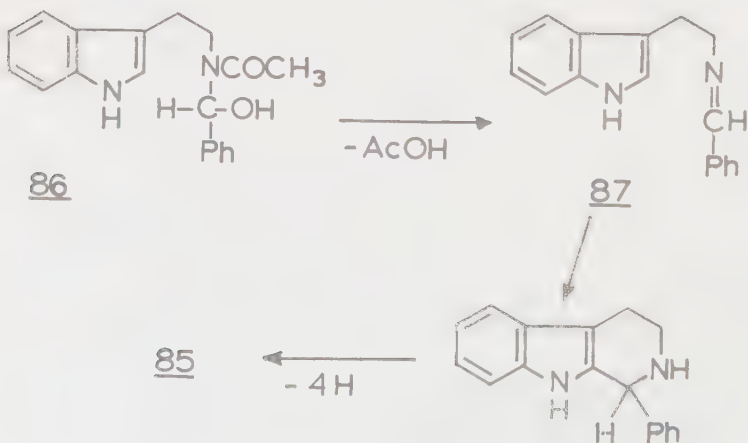
klärt.



85

Die Verbindung ist auch durch katalytische Dehydrierung von 1-Phenyl-tetrahydrocarbolin ⁷⁸⁾ mit Palladium-Mohr zugänglich (s. exp. Teil).

Die Reaktion des Acetyltryptamins mit Benzaldehyd hat offensichtlich nicht nach dem oben diskutierten Schema stattgefunden, da 82 (R=Ph) nachweislich nicht entstanden ist. Die Bildung des 1-Phenylcarbolins (85) deutet darauf hin, daß aus dem Additionsprodukt 86 Essigsäure eliminiert wird. Die Schiff'sche Base 87 cyclisiert zum 1-Phenyl-tetrahydrocarbolin, aus dem 85 durch Dehydrierung hervorgeht.



Das Azomethin 87 kann theoretisch auch aus Tryptamin und Benzaldehyd entstanden sein, was die Hydrolyse der Amidbindung des Acetyltryptamins voraussetzt. Im wäßrigen Milieu ist diese Spaltung durch Alkalien oder starke Mineralsäuren bei erhöhter Temperatur zu erreichen, nicht dagegen durch trockenes Erhitzen ⁷²⁾. Daher kann die Beteiligung von Tryptamin an der Reaktion ausgeschlossen werden.

Nach dem vorgeschlagenen Mechanismus sollte auch N-Glycyltryptophan mit Benzaldehyd unter Bildung von 85 reagieren. Tatsächlich läßt sich Phenylcarbolin neben dem Diketopiperazin 84 im Hochvakuumsublimat des Reaktionsproduktes nachweisen.

Nachdem so eine Reaktionsmöglichkeit von Acetyltryptamin mit Aldehyden aufgezeigt war, lag es nahe, Versuche mit Zuckern durchzuführen. Beim trockenen Erhitzen von Acetyltryptamin mit Xylose auf Temperaturen von 140° bis 220° trat nach kurzer Zeit Braunfärbung ein. Nach fünf Stunden war eine mehr oder weniger dunkle zusammengesinterte Masse entstanden. Zur Abtrennung höhermolekularer Produkte wurde im Hochvakuum destilliert, wobei zunächst Furfurol überging. Die höher siedenden Anteile stellten ein gelbes hochviskoses Öl dar, von dem Dünnschichtchromatogramme angefertigt wurden (Abb. 3). Sie zeigten, daß die Zahl der gebildeten Flecken bei den angewandten Reaktionstemperaturen gleich blieb. Lediglich die Größenrelationen änderten sich mit steigender Temperatur.

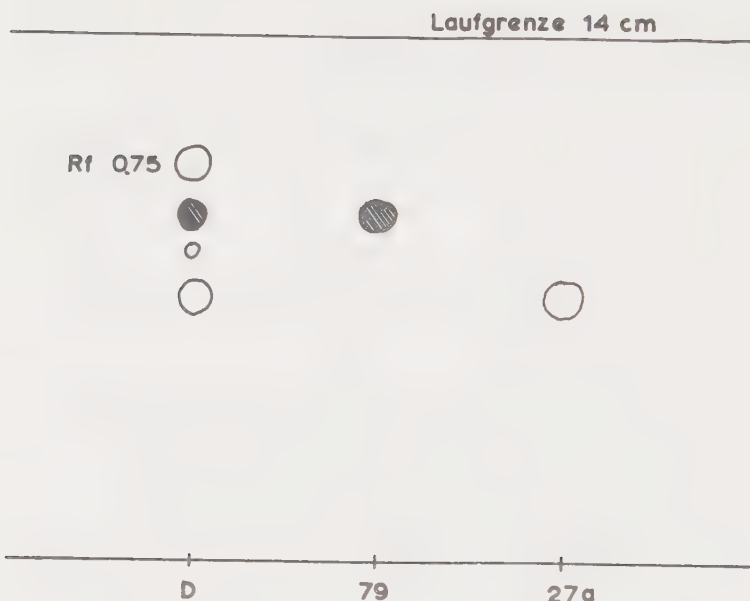


Abbildung 3: Chromatogramm des Hochvakuumdestillats der Reaktionsprodukte von Acetyltryptamin mit Xylose bei 220°

Fließmittel: Essigester/Äthanol (30+20)

D = Destillat

27a = Methylcarbolin

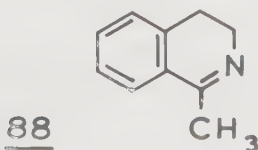
79 = Acetyltryptamin

Man erkennt aus der Abbildung, daß noch relativ viel Acetyltryptamin unumgesetzt geblieben ist. 1-Methylcarbolin (27a), das wie vorher diskutiert, auch in Abwesenheit von Zuckern gebildet wird, entsteht in beträchtlicher Menge. Die dem dritten deutlichen Fleck mit dem Rf-Wert 0,75 zugrunde liegende Substanz wurde durch präparative Schichtchromatografie gereinigt.

Aus den Spektren ergibt sich eindeutig, daß es sich um 1-Furylcarbolin (58) handelt. Dieser Befund bestätigt den Mechanismus, der bei der Bildung von 1-Phenylcarbolin (85) aus Acetyltryptamin und Benzaldehyd vorgeschlagen wurde.

Im analogen Versuch mit Glycyltryptophan trat nach fünfstündigem Erhitzen auf 220° schwache Gelbfärbung ein. Im Hochvakuum sublimierten farblose Kristalle, die zum größten Teil aus dem Diketopiperazin 84 bestanden. Daneben ließ sich dünnschichtchromatografisch 1-Furylcarbolin (58) nachweisen.

Prinzipiell könnte der Bischler-Napieralski-Ringschluß auch beim Erhitzen von Phenylalanin in Fetten auf höhere Temperaturen möglich sein, wobei das Triglycerid, wie bereits erwähnt, die Aminogruppe acyliert. Die Acylierung tritt schon bei 140° unter Decarboxylierung fast quantitativ ein, wie entsprechende Versuche mit Tributyrin und Tripalmitin zeigten. Für die weiteren Untersuchungen setzte ich N-Acetylphenyläthylamin ein, das bei einer Ringschlußreaktion 1-Methyl-3,4-dihydroisochinolin (88) bilden würde.



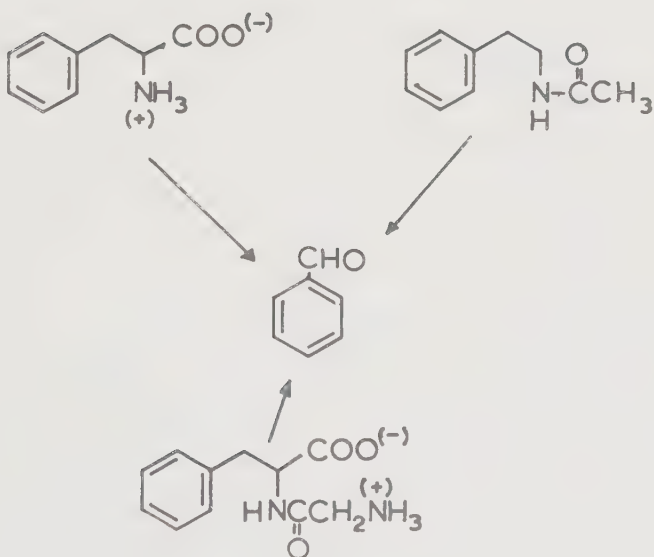
Zur Durchführung der Versuche erhitze ich Acetylphenyläthylamin zwei bis fünf Stunden lang auf 140° bis 240°,

wobei gelbe bis braune Öle entstanden. Entsprechende Parallelversuche wurden unter Zusatz von 10% Inosinsäure als Cyclisierungskatalysator angesetzt. Da 88 eine wasserdampfvlüchtige Flüssigkeit darstellt, wurde durch Wasserdampfdestillation aufgearbeitet. Aus den Destillaten ließen sich mit Äther viskose Flüssigkeiten extrahieren, die mit feinen Benzoessäurekristallen durchsetzt waren. Der Ätherextrakt wurde gaschromatografisch untersucht, wobei in keinem Fall Methylidihydroisochinolin (88) nachweisbar war. Offensichtlich ist der Phenylring durch das Fehlen aktivierender Elektronendonatoren nicht reaktiv genug, um unter den genannten Bedingungen den Ringschluß herbeiführen zu können.

Als Komponente des Ätherextrakts ließ sich Benzaldehyd identifizieren. Die Bildung von Benzaldehyd stellt einen überraschenden Befund dar, denn offensichtlich hat hier eine oxydative Sprengung einer Kohlenstoff-Einfachbindung stattgefunden. Es war daher wünschenswert, die Entstehung von Benzaldehyd aus Phenylalanin, sowie Derivaten des Phenylalanins unter verschiedenen Bedingungen quantitativ zu verfolgen. Als Derivate wurden Acetylphenyläthylamin und N-Glycylphenylalanin eingesetzt.

Um vergleichbare Bestimmungen der Ausbeute an Benzaldehyd durchführen zu können, wurde die Substanz in ein Spitzkölbchen gegeben, in das ein dünnes Glasrohr eintauchte. Über ein T-Stück war das Kölbchen direkt mit einer einfachen methylenchloridgefüllten Kühlfalle

verbunden. Durch das Ganze wurde ein schwacher Luftstrom gesaugt. Der beim Erhitzen der Substanz entstehende Benzaldehyd konnte so in der Kühlfalle, die mit festem Kohlendioxyd in Methanol gekühlt wurde, aufzufangen und gaschromatografisch bestimmt werden.



Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über die auf diese Weise erhaltenen Werte.

Versuch Nr.	Substanz	Glycerid bzw. Fett	°C	Benzaldehyd % Ausbeute
1	N-Acetylphenyl- äthylamin	—	150	1,2
2	N-Acetylphenyl- äthylamin	—	200	2,2
3	N-Acetylphenyl- äthylamin	—	240	3,1
4	N-Acetylphenyl- äthylamin	Triolein	190	1,7
5	N-Acetylphenyl- äthylamin	Olivenöl	190	1,0
6	Phenylalanin	Tripalmitin	180	0,4
7	Phenylalanin	Tripalmitin	240	0,9
8	Phenylalanin	Olivenöl	240	0,9
9	N-Glycylphenyl- alanin	Olivenöl	190	0,1

Die Substanzen (siehe Tabelle) wurden entweder alleine oder mit dem in der zweiten Spalte angegebenen Glycerid (Mengenverhältnis 1:1) unter Durchleiten eines schwachen Luftstroms fünf Stunden erhitzt. Bei der Bestimmung des Benzaldehyds wurde bei den Versuchen 1 bis 5 nur der in der Vorlage befindliche Anteil berücksichtigt. Da sich Aldehyde mit primären Aminen leicht zu Schiff'schen Basen umsetzen, wurde in den Fällen 6 bis 9 zusätzlich der Inhalt des Reaktionskolbens nach Zugabe von verdünnter Salzsäure einer Wasserdampfdestillation unterworfen und der dabei übergehende Benzaldehyd ebenfalls gaschromatographisch bestimmt.

Alle Derivate des Phenyläthylamins, die dabei untersucht wurden, bildeten beim Erhitzen in Gegenwart von Luft

Benzaldehyd. Die daneben auftretende Benzoessäure habe ich quantitativ nicht bestimmt. Wird statt Luft Stickstoff durch das Reaktionskölbchen gesaugt, tritt nur schwache Gelbfärbung ein. Benzaldehyd ist dann nur in Spuren nachweisbar.

Bei der Analyse von Röstaromen ist man häufig auf Benzaldehyd als flüchtige Komponente gestoßen. So isolierten ihn M.E.Mason und Mitarbeiter ⁷⁹⁾ aus Vakuumdampfdestillaten gerösteter Erdnüsse, P.Dietrich et al. ⁸⁰⁾ fanden ihn im Kakaoaroma. Auch in den flüchtigen Anteilen des Kaffees ist er enthalten ⁸¹⁾. Weiterhin wurde Benzaldehyd unter den im Fett gegrillter Hähnchen vorhandenen flüchtigen Verbindungen entdeckt ⁷⁶⁾. Über die Ursache der Benzaldehydbildung ist man sich noch nicht einig. E.L.Pippen et al. ⁷⁶⁾ erwägen die Bildung durch Strecker-Abbau. Das setzt jedoch die Existenz der in Lebensmitteln bisher noch nicht nachgewiesenen α -Phenyl- α -aminoessigsäure voraus. Andere Autoren ⁸²⁾ ziehen die Entstehung von Benzaldehyd durch Cyclisierung ungesättigter Fettsäuren beim Bratvorgang in Betracht. Nach den geschilderten Versuchen erklärt sich die Bildung von Benzaldehyd viel zwangloser durch Oxydation von Phenylalanin in freier oder peptidgebundener Form.

Wie die Versuchsreihen mit Tryptophan und Phenylalanin zeigen, werden diese Aminosäuren bei Bräunungsreaktionen im Proteinverband umgewandelt und teilweise abgebaut. Dadurch wird ein Lebensmittel in ernährungs-

physiologischer Hinsicht mit Sicherheit geschädigt.
Zu diesem wichtigen Aspekt der nichtenzymatischen Bräunung sei auf die zusammenfassenden Untersuchungen von H.D.Cremer und E.Menden¹⁵⁾ hingewiesen.

Zusammenfassung:

Mit "Maillard-Reaktion" bezeichnet man nichtenzymatische Bräunungsvorgänge, die auf Umsetzungen von Aminosäuren mit Zuckern in erhitzten und gelagerten Lebensmitteln beruhen. Dabei bilden sich polymere braune Substanzen sowie Verbindungen mit niederen und mittleren Molekulargewichten, die zum Teil als Aroma- und Geschmackskomponenten wirksam sind.

Trotz zahlreicher Untersuchungen ist die Reaktion in ihrem chemischen Ablauf noch weitgehend ungeklärt. Vielfach nimmt man an, daß primär Amino Zucker entstehen. Durch Kéto-Enol-Umlagerungen, Wasserabspaltungen, Retroaldol-Additionen und intramolekulare Dismutationen werden daraus Zuckerumwandlungsprodukte gebildet, die ihrerseits wieder in die Bräunungsreaktion eingreifen können. Die dabei intermediär auftretenden α -Dicarbonylverbindungen werden als reaktive Zwischenstufen angesehen. Die Aminosäuren und Amine reagieren meist unspezifisch, wobei sie als Katalysatoren fungieren oder in die Endprodukte eingebaut werden.

Einige Aminosäuren besitzen Seitenketten mit erhöhter Reaktivität. Es erscheint möglich, daß bei Umsetzungen mit Zuckern und Zuckerumwandlungsprodukten nicht nur die Aminogruppe, sondern auch die reaktive Seitenkette an der Reaktion beteiligt ist. Tryptophan ist am Indolring von elektrophilen Agentien leicht angreifbar. Tryptophan und Zucker könnten daher zu Derivaten des β -Carbolins reagieren.

In der vorliegenden Arbeit wurde das Verhalten des Tryptamins, des Tryptophans sowie einiger Derivate bei der Maillard-Reaktion untersucht. Zur Vereinfachung der Reaktionsabläufe führte ich Modellumsetzungen durch. Die dabei anfallenden komplexen Gemische wurden durch präparative Schichtchromatografie aufgetrennt. Bei den Reaktionen mit Zuckern in wäßriger Lösung konnte festgestellt werden, daß sich Tryptophan und Tryptamin ähnlich verhalten. Die aus Tryptophan gebildeten Produkte zeigen, daß Decarboxylierung stattgefunden hat. Die isolierten Carboline liegen hauptsächlich in der aromatischen Form vor. 3,4-Dihydrocarboline sind leicht dehydrierbar und können in der Hitze zu Tetrahydrocarbolinen und aromatischen Carbolinen disproportionieren.

Die Umsetzungen von Tryptamin und Tryptophan mit Xylose führten zu 1-Hydroxy-6,7-dihydro-12H-indolo[2,3-a]-chinoxalin-5-ium-betain (36), das in reiner Form isoliert und dessen Struktur durch Synthese erhärtet werden konnte. Nach experimentellen Befunden entsteht die Verbindung aus 1-[Furyl-(2)]-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin (48), das bei der Reaktion von Tryptamin mit dem Xyloseumwandlungsprodukt Furfurol gebildet wird. Im weiteren Reaktionsverlauf wird der Furanring geöffnet und lagert sich in das Pyridiniumsystem um. Für eine derartige Reaktion findet sich in der Literatur bislang noch keine Parallele. Aus Glucose und Tryptamin entsteht wider Erwarten nicht die analoge Verbindung (70) mit einer zusätzlichen Hydroxymethylgruppe in 4-Stellung, sondern wieder 1-Hydroxy-

-6,7-dihydro-12H-indolo-[2,3-a]-chinolizin-5-ium-betain (36). Diese Tatsache beruht offensichtlich auf der leichten Abspaltbarkeit von Formaldehyd aus dem erwarteten Endprodukt 7o .

Aus den Reaktionsgemischen der Umsetzungen von Tryptamin bzw. Tryptophan mit den Zuckern Xylose und Glucose konnten weitere Verbindungen isoliert werden. Bis auf zwei Ausnahmen besaßen sie Carbolinstrukturen. Ihre Bildung ist auf die Reaktion der Aminkomponente mit Zuckerumwandlungsprodukten zurückzuführen. Dabei entstehen zunächst Tetrahydrocarbolinderivate, die in den meisten Fällen zu aromatischen Carbolinsystemen dehydriert wurden. Welche Verbindungen im Reaktionsgemisch den Wasserstoff aufnehmen, läßt sich wegen der Vielfalt der gebildeten Produkte noch nicht sagen. Folgende Substanzen isolierte ich in reiner Form: 1-[Furyl-(2)]-β-carbolin (58), 1-Hydroxymethyl-β-carbolin (6o), 1-[1-Hydroxybuten-3-yl]-β-carbolin (62), β-Carbolin (34), 1-Methyl-1,2,3,4-tetrahydro-β-carbolin (77a), 1,2,3,4-Tetrahydro-β-carbolin (77b), 1-Acetyl-β-carbolin (78) und zwei aromatische Carboline mit aliphatischen Seitenketten in 1-Stellung, deren Strukturen nicht aufgeklärt werden konnten. Ein postuliertes Tetrahydrocarbolin mit intakter Zuckerseitenkette wurde nicht in Substanz isoliert, sondern durch Perjodatoxydation in 3,4-Dihydro-β-carbolin übergeführt, das zum aromatischen β-Carbolin (34) weiterreagierte. Diese Verbindung konnte ich in kristalliner Form gewinnen.

Zwei der abgetrennten Substanzen enthielten

keinen Stickstoff. Bei der Bildung von 4-Hydroxy-5-methyl-2,3-dihydro-furan-3-on (35) und 2-Hydroxymethyl-5-[3-oxobuten-1-yl]-furan (76) reagierte die Aminkomponente als unspezifischer Katalysator.

N-Glycyltryptophan erwies sich als Modellsubstanz für peptidgebundenes Tryptophan als weniger gut geeignet, da sich beim Erhitzen überwiegend 6-[3-Indolylmethyl]-2,5-diketopiperazin (84) bildet. Beim Erhitzen von N-Acetyltryptamin als Modellsubstanz für peptidgebundenes Tryptophan mit den Zuckern Xylose und Glucose in wäßriger Lösung erhielt ich eine Verbindung, für die die hypothetische Struktur eines 1-Hydroxy-12H-indolo-[2,3-a]-chinolizin-5-ium-betains (83) vorgeschlagen wurde. Eine exakte Strukturermittlung konnte nicht durchgeführt werden.

Zur Klärung der Frage, wie sich Tryptophan im Proteinverband bei simulierten Bratbedingungen verhält, habe ich die Modellsubstanz Acetyltryptamin auf Temperaturen bis 250° erhitzt. Dünnschichtchromatografisch konnte nachgewiesen werden, daß sich 1-Methyl-3,4-dihydro- β -carbolin (28a) und 1-Methyl- β -carbolin (27a) bilden. Die Reaktion mit Xylose im wasserfreien Medium führte statt zu den erwarteten 1-substituierten 2-Acetyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolinen (82) zu 1-Furyl- β -carbolin (58), das in Substanz isoliert wurde. Auch bei der Umsetzung von N-Glycyltryptophan mit Xylose entstand 1-Furyl- β -carbolin, das sich im Reaktionsgemisch dünnschichtchromatografisch nachweisen ließ.

Die Prüfung auf die analogen Ringschlußprodukte des Phenylalanins blieb erfolglos. Dabei konnte aber festgestellt werden, daß Phenylalanin und dessen Derivate N-Acetylphenylalanin und N-Glycylphenylalanin beim Erhitzen für sich sowie in verschiedenen Fetten Benzaldehyd bilden. Dies ist bemerkenswert, da die Reaktion das Vorhandensein von Benzaldehyd in den Aromen vieler hitzebearbeiteter Lebensmittel erklärt.

Die Arbeit läßt einige Fragen offen. Vier Verbindungen bedürfen einer vollständigen Strukturaufklärung. Ungeklärt ist der Reaktionsmechanismus der Umlagerung von 1-Hydroxy-6,7-dihydro-12H-indolo-[2,3-a]-chinolizin-5-ium-betain (36) in 1-[Furyl-(2)]-3,4-dihydro-β-carboline (38) unter Einwirkung von Chromtrioxyd und Eisessig. Es sollte der Versuch gemacht werden, die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Carboline in natürlichem Material nachzuweisen.

Literaturverzeichnis:

- 1) L.C.Maillard, C.R. hebd. Séances Acad. Sci. 154, 66 (1912)
- 2) L.J.Schroeder, M.Jakobellis u. A.H.Smith
J.Biol.Chemistry 212, 973 (1955)
- 3) C.Enders, Biochem. Z. 312, 339 (1942)
- 4) G.Graefe, Stärke 12, 2 (1960)
- 5) G.P.Ellis, Advances Carbohydrate Chem. 14, 63 (1959)
- 6) a) T.M.Reynolds, Advances Food Res. 12, 1 (1963)
b) T.M.Reynolds, Advances Food Res. 14, 167 (1965)
- 7) a) C.H.Lea u. R.S.Hannan, Biochim. Biophysica Acta
3, 313 (1949)
b) G.Haugaard, L.Tumerman u. H.Silvestri
J.Amer.Chem.Soc. 73, 4594 (1951)
- 8) M.L.Wolfrom u. C.S.Rooney, J.Amer.Chem.Soc. 75, 5435 (1953)
- 9) S.Araya, Journal of Japanese Biochemical Society 19, 143
(1947)
- 10) H.H.Beachman u. M.F.Dull, Food Res. 16, 439 (1951)
- 11) H.G.Leuto, J.C.Underwood u. C.O.Willits
Food Res. 23, 68 (1958)
- 12) H.Traitteur, Brauwissenschaft 9, 153 (1951)
- 13) a) R.A.Gortner u. G.E.Holm, J.Amer.Chem.Soc. 37, 1631
(1915)
b) M.L.Roxas, J.biol.Chemistry 27, 71 (1916)
c) G.Haugaard u. L.Tumerman, Arch.Biochem.Biophysics
65, 86 (1956)
- 14) T.L.Tan, M.L.Wolfrom u. A.W.Langer, J.Amer.Chem.Soc.
72, 5090 (1950)
- 15) H.D.Cremer u. E.Menden, Z. Lebensmittel Unters.u.Forsch.
104, 33 (1956)

- 16) K.Heyns u. R.Hauber, Liebig's Ann.Chem. 733, 159 (1970)
- 17) U.Krönig, geplante Dissertation München (1973)
- 18) H.Streuli in: J.Solms u. H.Neukom, Aroma- und Geschmacksstoffe in Lebensmitteln,
Forster-Verlag AG Zürich (1967)
- 19) H.S.Isbell u. H.L.Frush, J.Org.Chemistry 28, 2784 (1963)
- 20) a) R.Kuhn u. F.Weygand, Ber.dtsch.chem.Ges. 70, 769 (1937)
b) F.Weygand, Ber.dtsch.chem.Ges. 73, 1259 (1946)
- 21) a) K.Heyns, R.Eichstedt u. K.-H.Meinecke
Chem.Ber. 88, 1551 (1955)
b) J.F.Carson, J.Amer.Chem.Soc. 77, 1881 (1955)
- 22) W.W.Pigman u. R.M.Goepp, Chemistry of Carbohydrates
(Academic Press, New York 1948)
- 23) E.F.L.J.Anet, Austral.J.Chem. 12, 280 (1959)
J.Amer.Chem.Soc. 82, 1502 (1960)
Austral.J.Chem. 13, 396 (1960)
Austral.J.Chem. 15, 503 (1962)
- 24) H.S.Isbell u. H.L.Frush, J.Org.Chemistry 23, 1309 (1958)
- 25) J.U.Nef, Liebig's Ann.Chem. 376, 1 (1910)
- 26) G.Machell u. G.N.Richards, J.Chem.Soc. 1960, 1938
- 27) A.Schönberg u. R.Moubacher, Chem.Reviews 50, 261 (1952)
- 28) a) M.L.Wolf from, R.D.Schuetz u. L.F.Cavalieri
J.Amer.Chem.Soc. 71, 3518 (1949)
b) J.Amer.Chem.Soc. 70, 514 (1948)
- 29) C.D.Hurd u. L.L.Isenhour, J.Amer.Chem.Soc. 54, 317 (1932)
- 30) H.S.Isbell, J.Res.nat.Bur.Standards 32, 45 (1944)
Ref. Advances Carbohydrate Chem. 19, 181 (1964)
- 31) H.Kato u. M.Fujimaki, J.Food Sci. 33, 445 (1968)

- 32) J.Brand, Ber.dtsch.chem.Ges. 27, 807 (1894)
- 33) B.E.Fisher u. J.E.Hodge, J.Org.Chemistry 29, 776 (1964)
- 34) Th.Severin u. W.Seilmeier, Z.Lebensmittel Unters.u.
Forsch. 137, 4 (1968)
- 35) K.Heyns u. H.Noack, Chem.Ber. 97, 415 (1964)
- 36) A.Pictet u. T.Spengler, Ber.dtsch.chem.Ges. 44, 2030 (1911)
- 37) R.A.Abramovitch u. J.D.Spenser in: Katritzki, Advances
in Heterocyclic Chem. 3, 78 (1964)
(Academic Press New York u. London)
- 38) W.O.Kermack u. J.E.McKail in Elderfield, Heterocyclic
Compounds 7, 237 (1961) (John Wiley u. Sons
INC New York - London)
- 39) R.Tschesche, H.Jensen u. P.N.Rangachari, Chem.Ber. 91,
1732 (1958)
- 40) Th.Severin u. B.Heidenhain, Z.Lebensmittel Unters.u.Forsch.
132, 65 (1966)
- 41) B.Heidenhain, Dissertation Marburg/Lahn (1966)
- 42) a) C.Schöpf u. H.Steuer, Liebig's Ann.Chem. 558, 132 (1948)
b) M.Onda u. M.Sasamoto, Pharmac.Bull.Tokyo 5, 350 (1957)
C.A. 52, 14 631 a (1958)
- 43) E.Späth u. E.Lederer, Ber.dtsch.chem.Ges. 63, 2102 (1930)
- 44) R.Tschesche u. H.Jensen, Chem.Ber. 93, 272 (1960)
- 45) Th.Severin u. W.Seilmeier, Z.Lebensmittel Unters. u.
Forsch. 134, 230 (1967)
- 46) Ring-Index, Second Edition 1960 Nr.4504
- 47) R.N.Gupta u. I.D.Spenser, Canad.J.Chem. 40, 2041 (1962)
- 48) E.Wenkert, R.A.Massy-Westropp u. R.G.Lewis, J.Amer.Chem.
Soc. 84, 3732 (1962)

- 49) a) Varian NMR-Spectra Catalog, Varian associates Palo Alto, California (1963)
b) Th.Clerc, E.Pretsch, Kernresonanzspektroskopie Akadem. Verlagsgesellschaft Frankfurt/M (1970)
- 50) Y.Ban u. M.Seo, Tetrahedron 16, 5 (1961)
- 51) K.Lewicka u. E.Plazek, Roczniki Chem. 40, 405 (1966)
C.A. 65, 7134h (1966)
- 52) Th.Zincke u. G.Mühlhausen, Ber.dtsch.chem.Ges. 38, 3824 (1905)
- 53) W.F.Foley, G.E.Sanford u. H.McKennis, J.Amer.Chem.Soc. 74, 5489 (1952)
- 54) K.Aso, Bull.Inst.Physic.Chem.Res.Tokyo 18, 117 (1939)
C.A. 34, 3273 (1940)
- 55) Y.Shimizu, S.Matsuto, Y.Mizunuma u. I.Okada, J. of the Japanese Soc. of Food and Nutrition 23, 276 (1970)
Ref. Food Sci.Techn.Abstr. 3, M 1207 (1971)
- 56) H.Williams, P.Kaufmann, H.Mosher, J.Org.Chemistry 20, 1139 (1955)
- 57) R.Schiff, Ber.dtsch.chem.Ges. 10, 1186 (1877)
- 58) H.Möhrle, Arch.Pharmaz. 298, 612 (1965)
- 59) B.Kaempe, Acta pharmacol.toxicol. 25, 155 (1967)
- 60) E.Erdmann, Ber.dtsch.chem.Ges. 43, 2391 (1910)
- 61) K.Heyns, R.Stute, H.Paulsen, Carbohydr.Res. 2, 132 (1966)
- 62) O.Manasse, Ber.dtsch.chem.Ges. 27, 2409 (1894)
C.R.Noller, Lehrbuch der Organischen Chemie Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1960)
- 63) S.Wintergerst, Forsch.Gebiete Ingenieurw. 23, 69 (1957)
- 64) R.Breslow, J.Amer.Chem.Soc. 79, 1762 (1957)

- 65) H.C.Longuet-Higgins, Trans.Faraday Soc. 45 ,173 (1949)
- 66) S.Golding u. A.R.Katritzky, Canad.J.Chem. 43 ,1250 (1965)
- 67) I.P.Walradt, A.O.Pittet, T.E.Kuilin, R.Muralidhara, A.Sanderson, Agric.Food Chem. 19 , 972 (1971)
- 68) D.M.Collyer, Baker's Digest 1964, 43
- 69) E.Damm, H.Kringstad, J.Inst.Brewing 70 , 38 (1964)
- 70) S.Akabori u. K.Saito, Ber.dtsch.chem.Ges. 63 , 2245 (1930)
- 71) C.Enders, B.Marquardt, Naturwissenschaften 29 , 46 (1941)
- 72) J.Zabicky, The Chemistry of Amides - Interscience Publishers London-New York-Sidney-Toronto (1970)
- 73) a) E.E.van Tamelen, L.J.Dolby, R.G.Lawton, Tetrahedron Letters 19 , 30 (1960)
- b) E.E.van Tamelen, M.Shamma, A.W.Burgstrahler, J.Wolinsky, R.Tamm, P.E.Aldrich,
J.Amer.Chem.Soc. 80 , 5006 (1958)
- 74) H.R.Egli in: Wärmebehandlung von Lebensmitteln
Dechema Monographie 56 , 131 (1965)
- 75) a) T.Yamato, T.Kurata, H.Kato, M.Fujimaki,
Agric.Biol.Chem. 34 , 88 (1970)
- b) I.Hornstein, P.F.Growe, J.Agric.Food Chem. 11 , 147 (1963)
- c) A.M.Gaddis, R.Ellis, G.T.Currie
J.Amer. Oil Chemist's Soc. 38 , 371 (1961)
- d) K.Watanabe, Y.Sato, Agric.Biol.Chem. 35 , 756 (1971)
- 76) E.L.Pippen, E.P.Mecchi, M.Nonaka, J.Food Sci. 34 , 436 (1969)
- 77) E.Späth, E.Lederer, Ber.dtsch.chem.Ges. 63 , 120 (1930)
- 78) K.Freter, H.H.Hübner, H.Merz, H.D.Schroeder, K.Zeile,
Liebig's Ann.Chem. 684 , 159 (1965)

- 79) M.E.Manson, B.Johnson, M.C.Hamming,
J.Agric.Food Chem. 15, 66 (1967)
- 80) P.Dietrich, E.Lederer, M.Winter, M.Stoll,
Helv.Chim.Acta 47, 1581 (1964)
- 81) M.Stoll, M.Winter, F.Gautschi, I.Flament u. B.Willhalm,
Helv.Chim.Acta 50, 628 (1967)
- 82) T.Kawada, R.G.Krishnamurthy, B.D.Mookherjee u. S.S.Chang,
J.Amer. Oil Chemist's Soc. 44, 131 (1967)
- 83) R.C.Elderfield, B.Fisher, J.Lagowski,
J.Org.Chemistry 22, 1376 (1957)
- 84) T.Hoshino u. K.Shimodaira, Liebig's Ann.Chem. 520, 19
(1936)

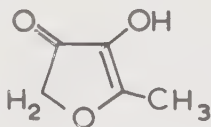
Experimenteller Teil

1) Umsetzung von Tryptaminacetat mit Xylose bei 160°

0,5 g Tryptamin und 1,0g Xylose werden mit 0,2 ml Eisessig in 20 ml Wasser gelöst und im Bombenrohr drei Stunden auf 160° erhitzt. Das Molverhältnis von Amin, Zucker und Essigsäure beträgt 1:2:1. Nach dem Abkühlen schüttelt man die braune Reaktionslösung mit Methylenchlorid im vorliegenden sauren, dann im alkalischen Milieu aus. Nach dem Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum bleiben braune Öle zurück.

A) Auftrennung des sauren Methylenchloridextraktes

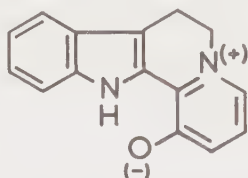
I) Isolierung von 4-Hydroxy-5-methyl-2,3-dihydrofuran-3-on (35)



Das gewonnene Öl wird auf eine präparative Kieselgel-Chromatografieplatte Merck F₂₅₄ mit 2 mm starker Schicht (im Folgenden PSC-Platte genannt) aufgetragen und mit Essigester als Fließmittel entwickelt. Im oberen Drittel erscheint im Licht der Wellenlänge 254 mμ eine fluoreszenzlöschende Zone, die man abtrennt und mit Methylenchlorid extrahiert. Nach dem Eindampfen des Lösungsmittels im Vakuum erhält man stark verunreinigte Kristalle, die durch Sublimation bei 0,1 Torr gereinigt werden, Schmp. 123° (Zers.), Ausbeute 0,3 % (bez. auf Xylose).

IR: (KBr) 3200 cm⁻¹(OH); 1690 cm⁻¹(CO); 1630 cm⁻¹(C=C)

II) Isolierung von 1-Hydroxy-6,7-dihydro-12H-indolo-
[2,3-a]-chinolizin-5-ium-betain (36)



Die Auftragslinie der bei I) beschriebenen entwickelten PSC-Platte wird abgetrennt und mit Methylenchlorid eluiert. Das nach dem Einengen im Vakuum anfallende braune Öl chromatografiert man an Kieselgel (PSC-Platte) mit dem Fließmittelsystem Aceton/Chloroform/25 % Ammoniak (60/20/10; organische Phase). Eine leuchtend gelbe Zone im unteren Drittel der Platte wird mit Methylenchlorid extrahiert. Auf diese Weise erhält man ein stark verunreinigtes gelbes Öl. Der Reinigungsprozeß durch PSC muß daher so lange wiederholt werden, bis die Substanz dünnschichtchromatographisch einheitlich ist. Beim anschließenden Trocknen im Vakuum entsteht aus dem gelben Öl ein nichtkristalliner Feststoff. Durch Sublimation im Hochvakuum werden letzte Reste von Lösungsmitteln entfernt. Das anfallende Sublimat, das sich als gelber Film zum Teil kristallin niederschlägt, ist dann analysenrein. Schmp. 230° (Zers.), Rohausbeute 7 % (bezogen auf Tryptamin)

C ₁₅ H ₁₂ N ₂ O	(236,2)	Ber. C 76,26	H 5,11	N 11,85
		Gef. C 75,86	H 5,19	N 11,65

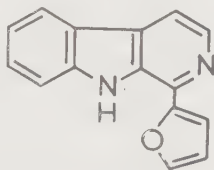
MS: m/e (%) 103(19);115(19);118(32);125(14);140(11);
143(10);154(8);167(8);180(10);205(14);206(27);

207(17);219(15);221(23);235(85);236(100;M⁺)

IR-, UV- und NMR-Spektrum im theoretischen Teil

B) Auftrennung des alkalischen Methylenchloridextraktes

Isolierung von 1-[Furyl-(2)]-β-carbolin (58)

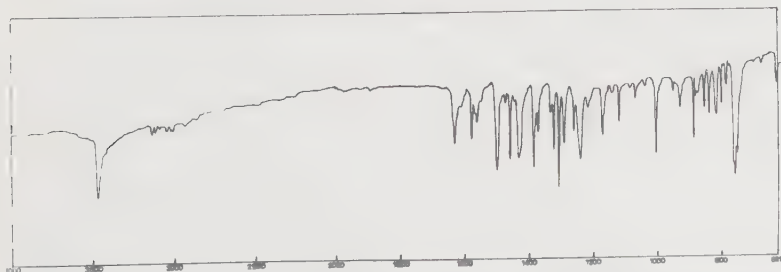


Das extrahierte braune Öl wird an Kieselgel (PSC-Platte) mit dem Fließmittelsystem Methanol/Aceton (20/80) chromatografiert. Unterhalb der Fließmittelfront liegt eine im Licht der Wellenlänge 350 mμ blau fluoreszierende Zone, die mit Methylenchlorid extrahiert wird. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels i. Vak. bleiben farblose Kristalle zurück, die durch Hochvakuumsublimation analysenrein erhalten werden. Schmp. 184°, Ausbeute 2 % (bez. auf Tryptamin)

C₁₅H₁₀N₂O (234,2) Ber. C 76,91 H 4,30 N 11,95

Gef. C 76,18 H 4,40 N 11,72

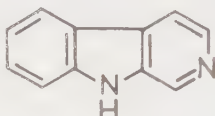
MS: m/e (%) 103(8);117(7);140(9);150(9);151(8);177(10);
178(10);205(60);206(30);234(100;M⁺)



IR-Spektrum von 58 in KBr; NMR-Spektrum im theoretischen Teil

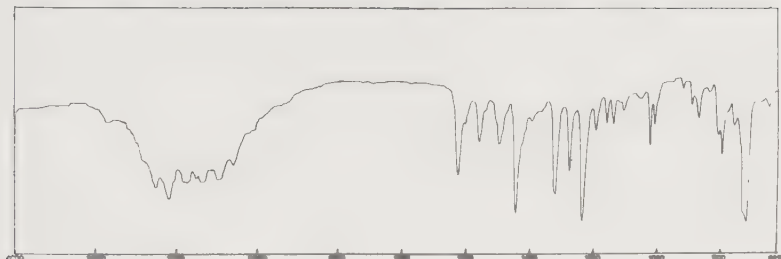
C) Natriumperjodatoxydation des Reaktionsproduktes von
Tryptaminacetat mit Xylose

Isolierung von β -Carbolin (34)



Die mit Methylenchlorid extrahierte Lösung der unter 1) beschriebenen Umsetzung wird mit verdünnter Salzsäure neutralisiert und mit 4 Mol NaJO_4 pro Mol Xylose versetzt. Nach 24-stündigem Stehen bei Raumtemperatur saugt man das ausgeschiedene Natriumjodat durch eine Glasfilternutsche ab und schüttelt die wäßrige Lösung mit Methylenchlorid erst im sauren, dann im alkalischen Milieu aus. Der alkalische Extrakt wird i.Vak. eingengt und auf eine PSC-Platte aufgetragen. Nach dem Entwickeln im Fließmittelgemisch Essigester/Äthanol (70/30) erscheint im oberen Drittel im Licht der Wellenlänge $350 \text{ m}\mu$ eine blau fluoreszierende Zone, die mit Methylenchlorid eluiert wird. Nach dem vollständigen Einengen i.Vak. bleiben Kristalle zurück, die durch Hochvakuumsublimation gereinigt werden. Schmp. 196° , Ausbeute 2 % (bez. auf Tryptamin)

$\text{C}_{11}\text{H}_8\text{N}_2$	(168,2)	Ber. C 78,55	H 4,78	N 16,55
		Gef. C 77,75	H 4,93	N 16,45



IR-Spektrum von 34 in KBr

2) Synthese von 1-Hydroxy-6,7-dihydro-12H-indolo-[2,3-a]-
chinolizin-5-ium-betain (36)

Ausgangsmaterialien:

2-Brom-3-hydroxypyridin wird durch Bromieren von 3-Hydroxypyridin (Hersteller Fa. Schuchardt München) im Alkalischen nach K.Lewicka und E.Plazek ⁵¹⁾ dargestellt.

Tryptophylbromid (45)

Zunächst stellt man β -(3-Indolyl)-äthylalkohol nach R.C.Elderfield und Mitarbeitern ⁸³⁾ durch Reduktion von Indolyl-3-essigsäure-äthylester mit LiAlH_4 her. Mit Phosphortribromid läßt sich der Alkohol nach T.Hoshino und K.Shimodaira ⁸⁴⁾ in Tryptophylbromid umwandeln.

174 mg 2-Brom-3-hydroxypyridin (1 mMol) und 448 mg Tryptophylbromid (2 mMol) löst man in 1,5 ml absol. Äthanol und erhitzt 48 Stunden unter Rückflußkühlung zum Sieden. Nach etwa 20 Stunden scheiden sich aus der Lösung Kristalle des Bromsalzes von 36 ab. Nach Beendigung der Reaktion wird die dunkelgelbe äthanolische Lösung zur Abtrennung der Nebenprodukte und zur Überführung des Salzes in die zwitterionische Form auf eine PSC-Platte aufgetragen und in

der bei 1) A) II) beschriebenen Weise aufgearbeitet. Ausbeute 76 % d. Th., Identifizierung siehe theor. Teil

3) Synthese von 36 aus Furfurol und Tryptamin

0,32 g Tryptamin und 1,15 g Furfurol (Molverhältnis 1:2) werden mit 10 ml Wasser in einem Bombenrohr 3 Stunden auf 160° erhitzt. Nach dem Abkühlen extrahiert man die gelbe Lösung mit Methylenchlorid. Die Isolierung von 36 erfolgt in der unter 1) A) II) beschriebenen Weise durch PSC und Hochvakuumsublimation. Ausbeute 5 % (bez. auf Tryptamin); Identifizierung durch IR-Spektrum

Ein molarer Zusatz von Essigsäure beeinflusst die Ausbeute nur unwesentlich.

4) Synthese von 36 aus Furfurylidentryptamin (47)

0,3 g Furfurylidentryptamin werden mit 10 ml Wasser im Bombenrohr drei Stunden auf 160° erhitzt. Die weitere Aufarbeitung geschieht wie unter 3) angegeben. Ausbeute 5 %, Identifizierung durch IR-Spektrum

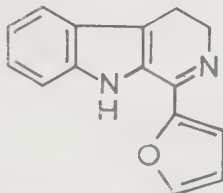
5) Synthese von 36 aus 1-[Furyl-(2)]-1,2,3,4-tetrahydro-B-carbolin (48)

0,3 g 48 und 10 ml Wasser erhitzt man im Bombenrohr 3 Stunden auf 160°. Die weitere Auftrennung erfolgt analog 3).

Ausbeute 10 %; Identifizierung durch IR-Spektrum

Ein Zusatz von Essigsäure oder Methylamin wirkt sich auf die Ausbeute nicht merklich aus.

c) Umlagerung von 36 in 1-[Furyl-(2)]-3,4-dihydro-β-carbolin (38)



a) mit CrO_3 und Eisessig

30 mg 36 werden in 1 ml Eisessig gelöst und nach Zugabe von 60 mg Chrom(VI)-oxyd über Nacht stehen gelassen. Dann wird mit verdünnter Natronlauge annähernd neutralisiert und mit Methylenchlorid ausgeschüttelt. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels i.Vak. bleibt ein braunes Öl zurück, das man der Chromatografie an Kieselgel (PSC-Platte) mit dem Fließmittelsystem Aceton/Chloroform/25 % Ammoniak (60/20/10; org. Phase) unterwirft. Unterhalb der Fließmittelfront erscheint eine gelbe Zone, die mit Methylenchlorid eluiert wird. Das Eluat liefert einen gelben Feststoff. Durch Hochvakuumsublimation erhält man analysenreines 38. Schmp. 55° , Ausbeute 20 % d.Th.

$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$	(236,2)	Ber. C 76,26	H 5,11	N 11,85
		Gef. C 75,81	H 5,12	N 11,41

MS: m/e (%) 103(14); 128(8); 143(7); 152(11); 180(26);
206(29); 207(49); 235(72); 236(100; M^+)

IR- und NMR-Spektrum im theor. Teil

b) mit Eisen(III)-chlorid und Salzsäure

30 mg 36 werden mit 20 mg Eisen(III)-chlorid in 3 ml verdünnter Salzsäure eine Stunde zum Sieden erhitzt. Nach dem

Neutralisieren mit Natronlauge extrahiert man mit Methylenchlorid und trennt den Auszug wie unter 6 a) angegeben auf. Ausbeute 5 % d.Th., Identifizierung durch IR-Spektrum

7) 1-[Furyl-(2)]-3,4-dihydro- β -carbolin (38) durch partielle Dehydrierung von 1-[Furyl-(2)]-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin (48)

100 mg 48 werden zu einer heißen Lösung von 75 mg Quecksilber(II)-acetat und 80 mg Äthylendiamintetraessigsäure (Dinatriumsalz) in 5 ml 1 %iger Essigsäure gegeben. Unter Einleiten von Stickstoff erhitzt man eine Stunde auf dem Wasserbad. Dann wird abgekühlt und das ausgeschiedene Quecksilber abfiltriert. Das gelbe Filtrat extrahiert man mit Methylenchlorid und isoliert 38 aus dem Auszug in der bei 6) beschriebenen Weise. Ausbeute 20 % d.Th., Identifizierung durch IR-Spektrum

8) 1-[Furyl-(2)]- β -carbolin (58) durch katalytische Dehydrierung von 1-[Furyl-(2)]-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin (48) und 1-[Furyl-(2)]-3,4-dihydro- β -carbolin (38)

50 mg 48 werden mit 50 mg Palladium auf Aktivkohle 6 Stunden in Xylol unter Rückflußkühlung gekocht. Nach dem Abkühlen filtriert man den Katalysator ab und entfernt das Lösungsmittel im Vakuum. Der Rückstand wird mit Methylenchlorid aufgenommen und so lange filtriert, bis die Lösung von Kohlepartikeln frei ist. Dann engt man i.Vak. zur Trockene ein und kristallisiert den Rückstand aus Essigester um. Ausbeute 40 %, Identifizierung durch IR-Spektrum
In der gleichen Weise wird 38 dehydriert.

9) Umsetzung von Furfurol mit Ammoniumchlorid und Ammoniak bei 160°

Isolierung von Furan-2-carbonsäureamid (54)

Äquimolare Mengen von Furfurol, Ammoniumchlorid und 25 % Ammoniak-Lösung werden im Bombenrohr 5 Stunden auf 160° erhitzt. Nach dem Abkühlen schüttelt man die dunkelbraune Lösung mit Methylenchlorid aus. Der Extrakt wird an Kieselgel (PSC-Platte) mit dem Fließmittelsystem Aceton/Chloroform/25 % Ammoniak (60/20/10; org. Phase) chromatografiert. Eine in der Plattenmitte bei Bestrahlen mit Licht der Wellenlänge 254 m μ fluoreszenzlöschende Zone wird abgetrennt und mit Methylenchlorid eluiert. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels bleibt ein braunes mit Kristallen durchsetztes Öl zurück, das man der Hochvakuumsublimation unterwirft. Dabei gehen farblose Kristalle von 54 über. Schmp. 140°, Ausbeute 3 % (bez. auf Furfurol)

C ₅ H ₅ NO ₂	(111,1)	Ber. C	54,06	H	4,53	N	12,60
		Gef. C	54,25	H	4,60	N	12,63

MS: m/e (%) 67(50); 95(100); 96(37); 111(100; M⁺)

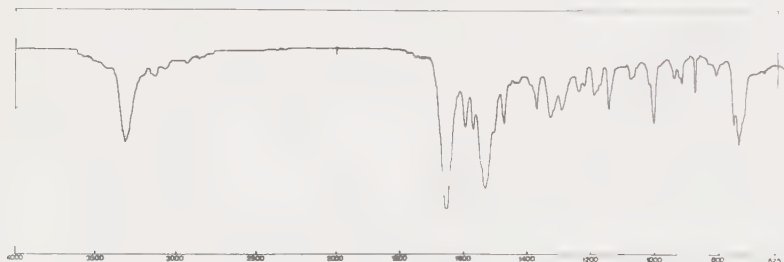
IR (KBr): 3335 cm⁻¹, 3180 cm⁻¹(NH); 1665 cm⁻¹(CO);
1635 cm⁻¹(NH₂)

10) Umsetzung von Furfurol mit Ammoniumacetat bei 160°

a) Isolierung von Acetylfurfurin (55)

Äquimolare Mengen von Furfurol und Ammoniumacetat werden in wässriger Lösung 5 Stunden im Bombenrohr auf 160° erhitzt. Der dabei gebildete feste Rückstand wird abfiltriert, getrocknet und bei 0,1 Torr sublimiert. Bei 140°

Luftbadtemperatur gehen farblose Kristalle von 55 über,
die man aus Äthanol umkristallisiert. Schmp. 250° (Zers.),
Ausbeute 2 % (bez. auf Furfurol)

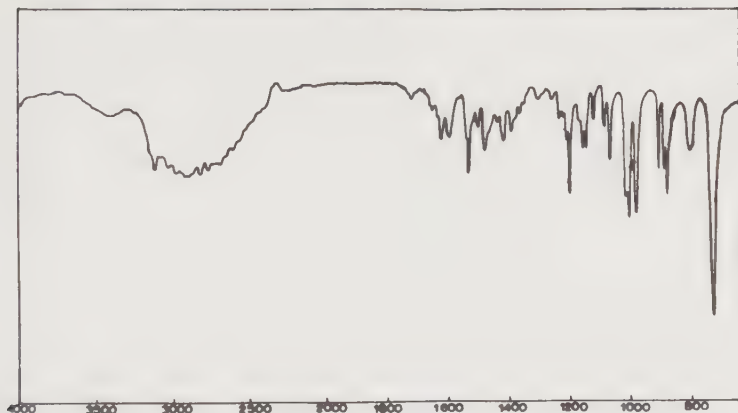


IR-Spektrum von (55) in KBr

b) Isolierung einer Substanz unbekannter Struktur

Die wäßrige Reaktionslösung wird mit Methylenchlorid extrahiert. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels i.Vak. bleibt ein braunes Öl zurück, das man an Kieselgel (PSC-Platte) mit dem Fließmittelgemisch Benzol/Essigester (75/25) chromatografiert. In der Plattenmitte erscheint im Licht der Wellenlänge 350 m μ eine breite fluoreszierende Zone, die mit Methylenchlorid extrahiert wird. Der Auszug liefert Kristalle, die durch ein braunes Öl verunreinigt sind. Die weitere Reinigung erfolgt durch Hochvakuumsublimation. Schmp. 200°, Ausbeute ca. 4 mg (ausgehend von 5 g Furfurol), (268;MS)

MS: m/e (%) 95(80);96(100);149(18);167(8);173(32);190(32);
266(18);268(15;M⁺)



IR-Spektrum der Verbindung mit nicht aufgeklärter Struktur
in KBr

11) Umsetzung von Tryptophan mit Xylose bei 160°

Tryptophan und Xylose werden im Molverhältnis 1:2 mit Wasser 3 Stunden im Bombenrohr auf 160° erhitzt. Die stark gebräunte Lösung, die von den schwarzen Rückständen durch Filtration befreit wird, schüttelt man erst im Säuren, dann im Alkalischen mit Methylenchlorid aus.

A) Auftrennung des sauren Methylenchloridextraktes

I) Isolierung von 1-Hydroxy-6,7-dihydro-12H-indolo-
[2,3-a]-chinolizin-5-ium-betain (36)

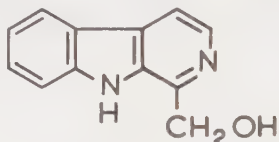
Gleiche Arbeitsweise wie bei 1) A) II)

B) Auftrennung des alkalischen Methylenchloridextraktes

Der alkalische Auszug wird an Kieselgel (PSC-Platte) mit dem Fließmittelgemisch Aceton/Chloroform/25 % Ammoniak (60/20/10; org. Phase) chromatografiert. Man erhält auf diese Weise 5 Zonen, die im Licht der Wellenlänge 350 mμ

durch Fluoreszenz sichtbar sind (vgl. Abb. 1). Die Zonen werden abgetrennt und mit Methylenchlorid extrahiert.

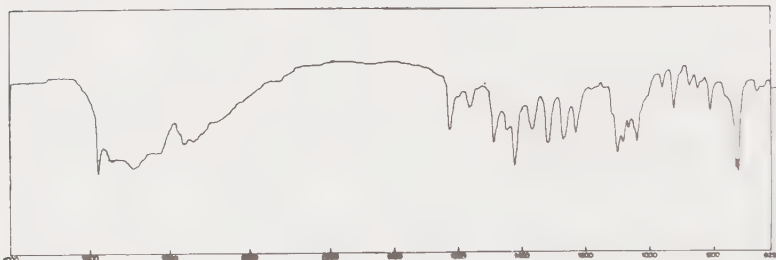
I) Isolierung von 1-Hydroxymethyl- β -carbolin (60)



Zone 1 (s. Abb. 1) ergibt farblose Kristalle von 60, die aus Chloroform umkristallisiert werden. Schmp. 170° , Ausbeute 4 % (bez. aus Tryptophan)

$C_{12}H_{10}N_2O$ (198;MS)

MS im theor. Teil

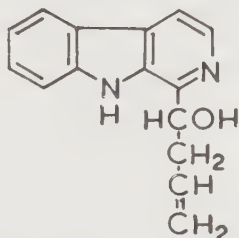


IR-Spektrum von 60 in KBr

II) Isolierung von β -Carbolin (34)

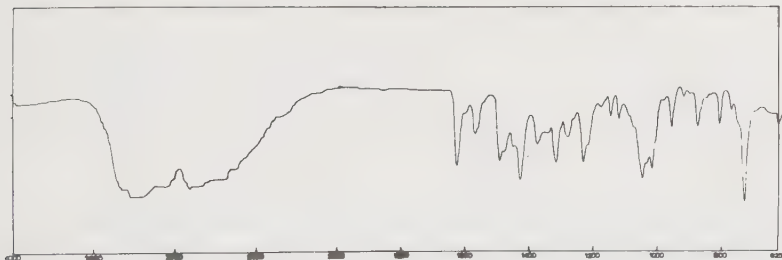
Das Eluat von Zone 4 fällt als braunes Öl an. Durch Sublimation im Hochvakuum lassen sich daraus farblose Kristalle gewinnen, die aus Chloroform umkristallisiert werden. Ausbeute 2 % (bez. auf Tryptophan), Identifizierung siehe theor. Teil

III) Isolierung von 1-[1-Hydroxybuten-3-yl]- β -carbolin
(62)



Zone 2 liefert nach dem Extrahieren Kristalle, die aus Methylenchlorid umkristallisiert werden. Schmp. 192°, Ausbeute 5 % (bez. auf Tryptophan)

$C_{15}H_{14}N_2O$ (238; MS)



IR-Spektrum von 62 in KBr

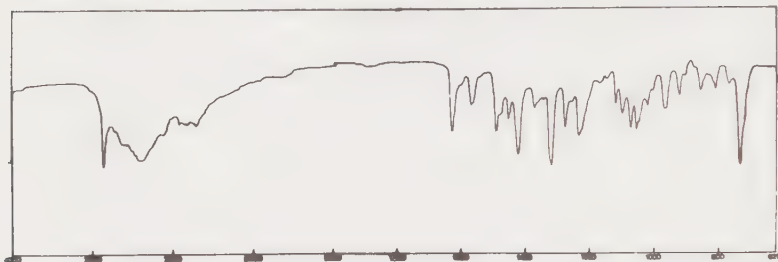
MS im theor. Teil

IV) Isolierung von zwei nicht identifizierten Carbolinen

Die Zonen 3 und 5 bilden nach dem Eluieren mit Methylenchlorid und Einengen im Vakuum braune Schmierer, die beim Verreiben mit einem Tropfen Aceton kristallin erstarren. Die weitere Reinigung erfolgt durch Hochvakuumsublimation, wobei farblose Kristalle erhalten werden.

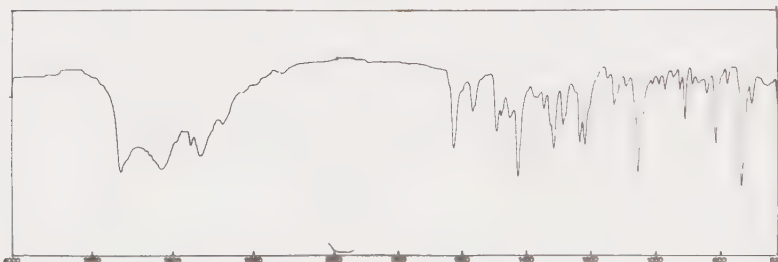
Massenspektren der beiden Verbindungen im theor. Teil

Substanz aus Zone 3 Schmp. 210° (254;MS) Ausbeute
ca. 3 mg (ausgehend von 0,5 g Tryptophan)



IR-Spektrum der Substanz aus Zone 3 in KBr

Substanz aus Zone 5 Schmp. 205° (256;MS) Ausbeute
ca. 4 mg (ausgehend von 0,5 g Tryptophan)



IR-Spektrum der Substanz aus Zone 5 in KBr

C) Untersuchung des festen Rückstandes

Isolierung von 1-[Furyl-(2)]- β -carbolin (58)

Der abfiltrierte getrocknete Rückstand wird pulverisiert, mit heißem Methanol ausgezogen und durch eine Glasfilternutsche abgesaugt. Die dunkelbraune methanolische Lösung engt man i.Vak. ein und chromatografiert sie an Kieselgel (PSC-Platte) mit Essigester als Fließmittel. Unmittelbar unterhalb der Fließmittelfront liegt eine bei Bestrahlen mit Licht der Wellenlänge 350 m μ blau fluoreszierende

Zone, die mit Methylenchlorid extrahiert wird. Der Extrakt bildet nach dem Abdampfen des Lösungsmittels ein gelbliches Öl, das beim Verreiben mit einem Tropfen Benzol auskristallisiert. Durch Hochvakuumsublimation erhält man reine farblose Kristalle. Ausbeute 2 % (bez. auf Tryptophan); Identifizierung durch IR-Spektrum

12) 1-Acetoxymethyl- β -carbolin (61)

5 mg 1-Hydroxymethyl- β -carbolin (60) werden in 1 ml Dioxan gelöst und nach Zugabe von 50 mg Acetanhydrid und 5 mg Natriumacetat 2 Stunden zum Sieden erhitzt. Anschließend entfernt man das Lösungsmittel i.Vak. und sublimiert den Rückstand bei 0,1 Torr, wobei farblose Kristalle übergehen. Schmp. 145°, Ausbeute 60 % d.Th.

$C_{14}H_{12}N_2O_2$ (240; MS)

IR (KBr): 1740 cm^{-1} (C=O); 1235 cm^{-1} (C-O-)

MS im theor. Teil

13) Umsetzung von Tryptaminacetat mit Glucose bei 160°

1 Mol Tryptamin, 2 Mol Glucose und 1 Mol Essigsäure werden in wäßriger Lösung im Bombenrohr 3 Stunden auf 160° erhitzt. Anschließend filtriert man die tiefbraune Lösung von dem schwarzen Rückstand ab und extrahiert mit Methylenchlorid im vorliegenden Sauren, dann im Alkalischen.

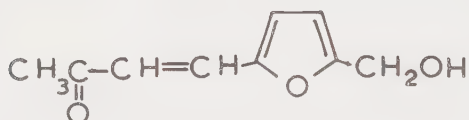
A) Auftrennung des sauren Methylenchloridextraktes

I) Isolierung von 36

Der saure Methylenchloridextrakt wird an Kieselgel (PSC-Platte) mit dem Fließmittelgemisch Aceton/Chloroform/25 % Ammoniak (60/20/10; org. Phase) chromatografiert.

Die im unteren Drittel der Platte erscheinende gelbe Zone wird abgetrennt und mit Methylenchlorid extrahiert. Die Isolierung von 36 erfolgt wie unter 1) A) II) angegeben.

II) Isolierung von 2-Hydroxymethyl-5-[3-oxobuten-1-yl]-furan (76)



Bei der unter I) beschriebenen Chromatografie ist eine weitere schnell laufende Zone durch Fluoreszenzlöschung im Licht der Wellenlänge 254 mμ sichtbar. Nach Abtrennung und Eluierung mit Methylenchlorid fällt 76 bereits kristallin an. Da die Substanz noch stark verunreinigt ist, wird sie in Methylenchlorid gelöst und an Kieselgel (PSC-Platte) mit Essigester chromatografiert. Letzte Verunreinigungen lassen sich durch Chromatografie an präparativen Kieselgelschichten mit dem Fließmittelgemisch Chloroform/25 % Ammoniak (80/10; org. Phase) entfernen. Durch Hochvakuumsublimation erhält man analysenreine Kristalle. Schmp. 54°, Ausbeute 2 % (bez. auf Glucose)

C₉H₁₀O₃ (166,2) Ber. C 65,05 H 6,06

Gef. C 65,22 H 6,29

MS: m/e (%) 41(29);67(21);77(21);95(10);107(14);135(100);
166(18;M⁺)

IR- und NMR-Spektrum im theor. Teil

B) Auftrennung des alkalischen Methylenchloridextraktes

I) Isolierung von 1-Methyl-1,2,3,4-tetrahydro-β-carboline (77a)

Das durch Extraktion gewonnene braune Öl wird zur Abtrennung höhermolekularer Anteile im Hochvakuum destilliert. Das übergehende Öl, das Kristalle enthält, chromatografiert man an Kieselgel (PSC-Platte) mit dem Fließmittelgemisch Aceton/Chloroform/25 % Ammoniak (40/40/10; org. Phase). Im unteren Drittel der Platte liegen zwei schlecht getrennte Zonen, die im Licht der Wellenlänge $254\text{ m}\mu$ durch Fluoreszenzlöschung sichtbar sind. Nach Extraktion mit Methylenchlorid chromatografiert man erneut an präparativen Kiesel-schichten, diesmal mit dem Fließmittelgemisch Aceton/Chloroform/25 % Ammoniak (60/20/10; org. Phase). Die schneller laufende Zone liefert nach dem Eluieren mit Methylenchlorid farblose Kristalle . Schmp. 178° , Ausbeute 2 % (bez. auf Tryptamin)

$C_{12}H_{14}N_2$	(186,2)	Ber. C 77,37	H 7,58	N 15,05
		Gef. C 76,85	H 7,20	N 15,40

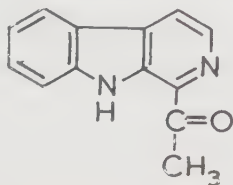
II) Isolierung von 1,2,3,4-Tetrahydro- β -carbolin (77b)

Das Methylenchlorid-Eluat der langsamer laufenden Zone bildet nach dem Abdampfen des Lösungsmittels farblose Kristalle. Schmp. 205° , Ausbeute 1 % (bez. auf Tryptamin)

$C_{11}H_{12}N_2$	(172,2)	Ber. C 76,72	H 7,02	N 16,26
		Gef. C 76,20	H 7,12	N 15,73

C) Untersuchung des festen Rückstandes

Isolierung von 1-Acetyl- β -carbolin (78)



Der abfiltrierte und getrocknete Rückstand wird pulverisiert und mit Methylenchlorid extrahiert. Nach dem Einengen i.Vak. erhält man ein dunkelbraunes Öl, das im Hochvakuum destilliert wird. Dabei gehen Kristalle und geringe Mengen Öl über. Durch Umkristallisieren aus Äthanol gewinnt man gelbliche Kristalle. Schmp. 216°, Ausbeute 2 % (bez. auf Tryptamin)

$C_{13}H_{10}N_2O$ (210,1) Ber. C 74,25 H 4,79 N 13,33

Gef. C 74,00 H 4,87 N 12,54

MS: m/e (%) 115(28);140(74);141(24);167(70);168(100);
210(92;M⁺)

IR- und NMR-Spektrum im theor. Teil

14) Umsetzung von Acetyltryptamin mit Xylose und Glucose bei 220°

Isolierung einer Substanz mit der hypothetischen Struktur 83
Acetyltryptamin, Xylose und Essigsäure im Molverhältnis 1:2:1 werden in wäßriger Lösung im Bombenrohr 4 Stunden auf 220° erhitzt. Die dunkelbraune Lösung extrahiert man im vorliegenden schwach sauren Milieu. Nach dem Einengen wird der Auszug an Kieselgel (PSC-Platte) mit Aceton/Chloroform/25 % Ammoniak (60/20/10; org. Phase) chromatografiert. Die im unteren Drittel der Platte liegende gelbe Zone extrahiert man mit Methylenchlorid. So erhält man eine gelbe Substanz. Sie wird der Hochvakuumsublimation unterworfen, wobei sich ein gelber amorpher Film bildet. Schmp. 280° (Zers.), Ausbeute ca. 1 % (bez. auf Acetyltryptamin); (234;MS)

MS: m/e (%) 73(77);86(50);120(83);146(100);149(87);
162(33);188(13);206(38);234(50;M⁺)

Die Reaktion mit Glucose führt bei gleicher Arbeitsweise ebenfalls zu der Verbindung mit der hypothetischen Struktur 83.

15) Umsetzung von N-Glycyltryptophan mit Xylose bei 160°

Isolierung von 6-[3-Indolylmethyl] 2,5-diketopiperazin (84)

N-Glycyltryptophan, Xylose und Essigsäure im Molverhältnis 1:2:1 werden mit Wasser 4 Stunden auf 160° erhitzt.

Nach dem Abkühlen scheiden sich farblose Kristalle ab, die man durch Filtration sammelt. Die weitere Reinigung erfolgt durch Hochvakuumsublimation und durch Umkristallisieren aus Dimethylformamid/Methylenchlorid. Schmp. 275° (Zers.), Ausbeute 20 %

C₁₃H₁₃N₃O₂ (243,2) Ber. C 64,24 H 5,38 N 17,28

Gef. C 63,70 H 5,54 N 17,7-

IR (KBr): 3350 cm⁻¹ (NH); 1670 cm⁻¹ (C=O)

16) Dünnschichtchromatografische Untersuchung der Reaktionsprodukte von erhitztem Acetyltryptamin

Jeweils 100 mg Acetyltryptamin werden in einem Spitzkölbchen mit aufgesetztem Steigrohr im Ölbad 5 Stunden auf 150°, 200° und 250° erhitzt. Acetyltryptamin schmilzt dabei und färbt sich mit steigender Temperatur gelb bis dunkelbraun. Zur Abtrennung höhermolekularer Anteile destilliert man die anfallenden Öle im Hochvakuum. Die einzelnen Destillate werden dünnschichtchromatografisch in den unten angegebenen Fließmitteln untersucht. Als Vergleichssubstanzen

dienen 1-Methyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin (77a), 1-Methyl-3,4-dihydro- β -carbolin (28a), 1-Methyl- β -carbolin (27a) und N-Acetyltryptamin (79). Dabei zeigt sich (vgl. Abb. 2a und 2b), daß 2 der gebildeten Substanzen gleiche Rf-Werte wie 28a und 27a besitzen. Die Intensität der Flecken nimmt mit steigender Temperatur zu.

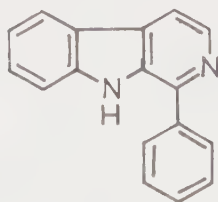
Die gleiche Versuchsreihe wird mit einem Zusatz von 10 % Inosinsäure durchgeführt. In den Dünnschichtchromatogrammen kann man eine Zunahme der Größe der Carbolinflecken feststellen, bezogen auf nicht umgesetztes Acetyltryptamin. Als Fließmittel kamen zur Anwendung:

Fließmittel 1: Äthanol/25 % Ammoniak (80/20)

Fließmittel 2: Essigester

17) Umsetzung von Acetyltryptamin mit Benzaldehyd bei 200° und 250°

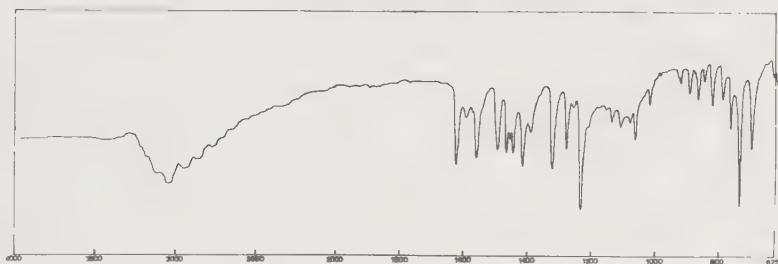
Isolierung von 1-Phenyl- β -carbolin (85)



100 mg Acetyltryptamin und 150 mg Benzaldehyd werden im Spitzkölbchen mit Steigrohr 5 Stunden auf 200° bzw. 250° erhitzt. Nach anschließender Destillation im Hochvakuum chromatografiert man das übergegangene Öl an Kieselgel (PSC-Platte) mit Essigester. Unterhalb der Fließmittelfront liegt eine im Licht der Wellenlänge 350 m μ fluoreszierende Zone, die mit Methylenchlorid extrahiert wird.

Zur weiteren Reinigung unterwirft man den Extrakt erneut der präparativen Schichtchromatografie mit dem Fließmittelsystem Essigester/Tetrachlorkohlenstoff (30/70) und extrahiert eine mittelschnell laufende Zone mit Methylenchlorid. Farblose Kristalle aus Essigester, Schmp. 245°, Ausbeute 8 % (bez. auf Tryptamin)

$C_{17}H_{12}N_2$	(244,3)	Ber. C 83,56	H 4,96	N 11,46
		Gef. C 83,76	H 4,97	N 11,68



IR-Spektrum von 85 in KBr

18) 1-Phenyl- β -carbolin (85)

Man stellt 1-Phenyl-1,2,3,4-tetrahydro- β -carbolin aus Tryptamin und Benzaldehyd nach K.Freter et al. ⁷⁸⁾ her. 100 mg dieser Verbindung werden mit 200 mg Palladium-Mohr verrieben und in ein enges, unten zugeschmolzenes Glasrohr gefüllt, das im Ölbad 4 Stunden auf 190° erhitzt wird. Dann löst man den Inhalt des Röhrchens in Methanol, filtriert und engt das Filtrat ein, wobei Phenylcarbolin auskristallisiert. Die weitere Reinigung erfolgt durch Hochvakuumsublimation und Umkristallisation aus Essigester. Ausbeute 40 %, Identifizierung durch IR-Spektrum

19) Umsetzung von N-Glycyltryptophan mit Benzaldehyd bei 250°

Isolierung von 1-Phenyl- β -carbolin (85)

100 mg N-Glycyltryptophan werden mit 150 mg Benzaldehyd im Spitzkölbchen mit Steigrohr 5 Stunden auf 250° erhitzt. Die dabei entstehende dunkelbraune gesinterte Masse unterwirft man der Hochvakuumsublimation, wobei farblose Kristalle übergehen, die zum größten Teil aus 6-[3-Indolylmethyl]-2,5-diketopiperazin (84) bestehen. Man extrahiert das Sublimat mit Methylenchlorid und chromatografiert diesen Auszug an Kieselgel (PSC-Platte) mit Äthanol/Ammoniak (80/20). Die im oberen Drittel der Platte liegende, im Licht der Wellenlänge 350 m μ blau fluoreszierende Zone wird mit Methylenchlorid eluiert, wobei farblose Kristalle anfallen. Ausbeute 0,2 %; Identifizierung durch IR-Spektrum

20) Umsetzung von Acetyltryptamin mit Xylose bei 140° bis 220°

Isolierung von 1-[Furyl-(2)]- β -carbolin (58)

100 mg Acetyltryptamin werden im Spitzkölbchen mit Steigrohr 5 Stunden auf 140°, 180° und 220° erhitzt. Anschließend destilliert man bei 0,1 Torr, wobei bei 50° Luftbadtemperatur Furfurol übergeht. Bei einer Luftbadtemperatur von 140° destilliert ein gelbes Öl über, das an Kieselgel (PSC-Platte) mit Essigester als Fließmittel chromatografiert wird. Eine schnell laufende, im Licht der Wellenlänge 350 m μ blau fluoreszierende Zone extrahiert man mit Methylenchlorid, wobei farblose Kristalle von Furylcarbolin erhalten werden. Die Ausbeute an 58 nimmt mit steigender Temperatur zu (ca. 5 % bei 220°).

21) Umsetzung von N-Glycyltryptophan mit Xylose bei 220°
Dünnschichtchromatografischer Nachweis von 1-[Furyl-(2)]-
- β -carbolin (58)

100 mg N-Glycyltryptophan und 200 mg Xylose werden im Spitzkölbchen 5 Stunden lang auf 220° erhitzt, wobei Gelbfärbung eintritt. Zur Abtrennung von nicht flüchtigen Produkten sublimiert man den Inhalt des Reaktionsgefäßes bei 0,1 Torr. Das Sublimat, das zum größten Teil aus dem Di-ketopiperazin 84 besteht, wird mit Methylenchlorid extrahiert. Der Auszug liefert in Dünnschichtchromatogrammen bei verschiedenen Fließmitteln Flecken mit gleichen Rf-Werten wie das authentische 1-[Furyl-(2)]- β -carbolin. Als Fließmittel kommen zur Anwendung:

Essigester

Essigester/Äthanol (30/20)

Äthanol/25 % Ammoniak (90/10)

22) Gaschromatografische Prüfung auf 1-Methyl-3,4-dihydro-
isochinolin (88) in erhitztem Acetylphenyläthylamin

Nachweis von Benzaldehyd

100 mg Acetylphenyläthylamin werden im Spitzkölbchen 2 bis 5 Stunden auf 140° bis 240° erhitzt, wobei mehr oder weniger stark gebräunte Öle entstehen.

Die gleiche Versuchsreihe führt man mit einem Zusatz von 10 % Inosinsäure durch.

Die Erhitzungsprodukte werden jeweils einer Wasserdampfdestillation unterworfen und die Destillate mit Äther ausgeschüttelt. Nach dem Trocknen des Extraktes mit entwässer-

tem Natriumsulfat und dem Einengen i. Vak. erhält man ölige Flüssigkeiten, die im analytischen Gaschromatografen auf die Anwesenheit von 1-Methyl-3,4-dihydroisochinolin untersucht werden.

Gerät: Perkin-Elmer Fraktometer F 20 H

Säule: Stahlsäule 2 m / 2,3 mm; 15 % Polypropylenglycol
auf Kieselgur 60-100 mesh

Einspritzblocktemperatur: 200°

Detektortemperatur: 200°

Säulentemperatur: 130° (isotherm)

Heliumgasdurchfluß: 30 ml/min

Brücke: (WLD) 4

Einspritzmenge: 3 µl

Die Gaschromatogramme der Wasserdampfdestillate weisen neben dem Lösungsmittelpeak jeweils nur einen weiteren Peak auf, der jedoch nicht dem 1-Methyl-3,4-dihydroisochinolin zuzuordnen ist. Er läßt sich durch die Zuspritzmethode als Benzaldehyd identifizieren. Chemisch ist Benzaldehyd in den Wasserdampfdestillaten als 2,4-Dinitrophenylhydrazon nachweisbar.

23) Quantitative gaschromatografische Bestimmung von Benzaldehyd, der beim Erhitzen von Derivaten des Phenylalanins gebildet wird

Versuchsaufbau und -durchführung sind im theor. Teil beschrieben. Die Einstellung des Gaschromatografen ist die gleiche wie bei 22). Die quantitative Bestimmung wird mit n-Butanol als innerem Standard durchgeführt und als

Peakmeßwert das Gewicht der aus dem Gaschromatogramm ausgeschnittenen Peaks eingesetzt.

Die Spektren wurden an folgenden Geräten aufgenommen:

VARIAN T 60 NMR-Spectrometer

PERKIN-ELMER 257 Grating Infrared Spectrophotometer

VARIAN CH 7 Mass-Spectrometer

ZEISS Spektralphotometer PMQ II

Lebenslauf

<u>Karl-Heinz Bräutigam</u>	geboren am 24.2.1944 in Koserow (Usedom) als Sohn des praktischen Arztes Dr. Rudolf Bräutigam und seiner Ehefrau Helene, geb. Elsner
<u>Schulen</u>	1950-1954 Volksschule in München 1954-1958 Oberrealschule Hohen- schwangau bei Füssen/Allgäu 1958-1964 Asam-Oberrealschule München
<u>Reifeprüfung</u>	Juni 1964 in München
<u>Berufsausbildung</u>	WS 1964/65 - SS 1969 Studium der Lebensmittelchemie, Universität München
Vorprüfung	26.10.1967
Staatsexamen	15.7.1969

Seit Oktober 1969 arbeite ich unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. Th. Severin am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität München an der vorliegenden Dissertation.

